Marcia de Mello Correia

Avaliação dos efeitos da exposição crônica ocupacional ao mercúrio metálico na função e parênquima da glândula tireoidiana

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Patologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto Amador Pereira

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Suemi Marui

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP).

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Correia, Marcia Mello
Avaliação dos efeitos da exposição crônica
ocupacional ao mercúrio metálico na função e
parênquima da glândula tireoidiana / Marcia Mello
Correia. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Patologia.
Orientador: Luiz Alberto Amador Pereira.
Coorientador: Suemi Marui.

Descritores: 1.Mercúrio 2.Intoxicação por
mercúrio 3.Exposição ambiental 4.Tiroxina
5.Selênio 6.Ultrassom

USP/FM/DBD-139/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Agradecimentos

Ao nosso **PAI CELESTIAL**, de quem procede toda boa dádiva e todo dom perfeito.

À Professora Marcília Medrado Araujo Faria (*in memorian*), por seu trabalho de excelência e dedicação aos pacientes, que muito nos ensinou sobre o mercurialismo. Por suas pesquisas inovadoras e seu constante incentivo à realização de novos estudos sobre os efeitos tóxicos do mercúrio. A ela devemos o nascimento deste estudo.

Ao meu orientador, Professor Luiz Alberto Amador Pereira, pelos valiosos ensinamentos, sua grande competência e incansável dedicação foram imprescindíveis para realização desta tese.

À co-orientadora, Professora Suemi Marui, seu profundo conhecimento e orientações foram de extrema importância para construção do estudo.

À Professora Maria Cristina Chammas pela inestimável colaboração, por ter possibilitado a realização dos exames de imagem, que aperfeiçoaram grandemente o estudo.

À Dra Julia Diva Zavariz, por sua dedicação e primoroso trabalho de realização das ultrassonografias, por suas explicações muito claras e minuciosas, que possibilitaram um grande aprendizado para mim.

À Professora Lourdes Conceição Martins, por sua valiosa colaboração e excelência na orientação das análises estatísticas.

Às coordenadoras Eliana Carvalho Serra e Gisele Mussi, pelo incentivo, pelos ajustes constantes de horários para que eu pudesse dedicar tempo à pesquisa, pela valiosa amizade.

Às enfermeiras Bárbara, Bruna e Giovana, pela valiosa colaboração para formação dos grupos de pesquisa.

À toda equipe do Serviço de Saúde Ocupacional pelo importante apoio na realização do estudo.

Ao meu querido esposo e família, pela alegria, amor, companheirismo, apoio e compreensão.

Aos meus amados pais (*in memorian*), por tanta dedicação e cuidado, eu não conseguiria agradecer de forma justa, em algumas linhas, tudo o que fizeram por mim.

“Feliz é a pessoa que acha a sabedoria e que
consegue compreender as coisas,
pois isso é melhor do que a prata
e tem mais valor do que o ouro”.

Provérbios 3:13 -14

Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver). Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

Sumário

Lista de siglas e abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Lista de quadros

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Usos e fontes de exposição ocupacional ao mercúrio metálico	4
1.2 Efeitos tóxicos do mercúrio metálico.....	8
1.3 Indicador biológico de exposição ocupacional	12
1.4 Efeitos do mercúrio sobre a função e a glândula tireoidiana	13
2 JUSTIFICATIVA	19
3 HIPÓTESES	21
4 OBJETIVOS	23
5 MÉTODOS	25
5.1 Seleção dos participantes	25
5.2 Critérios de elegibilidade	25
5.3 Critérios de exclusão	27
5.4 Tamanho da amostra	27
5.5 Casuística	28
5.6 Avaliação dos participantes.....	28
5.7 Variáveis do estudo	30
5.8 Análises estatísticas.....	40
5.9 Procedimentos e aspectos éticos	42
5.9.1 Financiamento da pesquisa	43
6 RESULTADOS	45
6.1 Amostra do estudo.....	45
6.2 Características sociodemográficas dos participantes do estudo	45

6.3 Características de idade e medidas ponderais dos indivíduos.....	53
6.4 Características do consumo de tabaco, álcool e drogas	54
6.5 Análise dos exames toxicológicos e período de exposição.....	55
6.6 Sintomas e sinais observados no exame clínico.....	58
6.7 Concentrações dos hormônios tireoidianos, selênio e iodo.....	62
6.8 Características do parênquima tireoidiano observadas no ultrassom com Doppler de tireoide.....	70
7 DISCUSSÃO	85
7.1 Características sociodemográficas dos participantes do estudo	85
7.2 Características de idade e medidas ponderais dos indivíduos.....	88
7.3 Análise dos exames toxicológicos e duração da atividade laboral.....	89
7.4 Análise dos sintomas e sinais observados nos participantes	92
7.5 Comparação das concentrações hormonais	94
7.6 Características do parênquima e nódulos tireoidianos	99
7.7 Limitações do estudo.....	102
8 CONCLUSÕES	104
9 REFERÊNCIAS	106

Lista de siglas e abreviaturas

AC ATG	Anticorpo anti-tireoglobulina
AC ATPO	Anticorpo anti-tireoperoxidase
C	Centígrados
DP	Desvio padrão
Hg	Mercúrio
HgCl₂	Cloreto de mercúrio
HC	Hospital das Clínicas
IBMP	Índice Biológico Máximo Permitido
IBUTG	Índice de bulbo úmido e termômetro de globo
IMC	Índice de massa corporal
IC	Intervalo de confiança
IU/ml	Unidade Internacional por mililitro
IR	Índice de resistividade
Kg	Quilograma
mg	Miligrama
m³	Metro cúbico
ng/dl	Nanograma por decilitro
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
PPM	Partes por milhão
RNA_m	Ácido ribonucleico mensageiro
SSO	Serviço de Saúde Ocupacional
T3	Triiodotironina
T3R	Triiodotironina reversa
T3L	Triiodotironina livre
T4	Tetraiodotironina
T4L	Tetraiodotironina livre
TG	Tireoglobulina
TPO	Tireoperoxidase
TSH	Tireotrofina
TSHβ	Tireotrofina subunidade beta
USP	Universidade de São Paulo
WHO	World Health Organization

µg/ g	Micrograma por grama
µg/L	Micrograma por litro
µIU/ml	Miliunidade internacional por mililitro

Lista de tabelas

Tabela 1 - Distribuição dos participantes da pesquisa (número e proporção), segundo a classificação de atividade econômica e grupos de exposição - 2016 a 2017.....	46
Tabela 2 - Distribuição dos participantes (número e proporção), segundo o uso de equipamentos de proteção individual e grupos de exposição - 2016 a 2017.....	50
Tabela 3 - Grau de escolaridade dos participantes do estudo, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017.....	52
Tabela 4 - Características de idade, medidas ponderais e índice de massa corporal dos participantes, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017.....	53
Tabela 5 - Comparação de médias, valor mínimo e máximo das concentrações de mercúrio urinário - 2016 a 2017.....	55
Tabela 6 - Número e proporção de sintomas referidos pelos participantes, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017.....	59
Tabela 7 - Coeficientes de correlação de Spearman entre sintomas, categoria de exposição, duração do trabalho e concentrações de mercúrio urinário - 2016 a 2017.....	61
Tabela 8 - Comparação de médias, valores mínimo e máximo das concentrações hormonais, concentrações de selênio e iodo, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017.....	62
Tabela 9 - Coeficientes de correlação de Spearman entre as concentrações hormonais, as variáveis de exposição, iodo e selênio - 2016 a 2017.....	65
Tabela 10 - Razão de chances (OR) para elevação das concentrações de TSH, em relação à concentração de mercúrio urinário, exposição e marcadores de autoimunidade - 2016 a 2017.....	68
Tabela 11- Razão de Chances (OR) para concentrações de T3R estarem acima do terceiro quartil em relação ao tabagismo, mercúrio urinário, tempo de atividade laboral e marcadores de autoimunidade.....	69
Tabela 12- Características da tireoide, observadas no ultrassom duplex-Doppler, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017.....	70
Tabela 13 - Características ecográficas dos nódulos tireoidianos, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017.....	73
Tabela 14 - Características dos nódulos tireoidianos (suspeitos de malignidade), segundo grupos de exposição e classificação citológica de Bethesda - 2016 a 2017.....	74

Tabela 15 - Características dos nódulos tireoidianos, segundo critérios de classificação do sistema TI-RADS - 2016 a 2017	75
Tabela 16 - Características dos nódulos tireoidianos (não suspeitos de malignidade), segundo grupos de exposição, não classificados como suspeitos - 2016 a 2017	76

Lista de figuras

Figura 1 - Representação gráfica da distribuição de participantes da pesquisa, segundo risco ocupacional e grupos de exposição - 2016 a 2017.....	49
Figura 2 - Representação gráfica da distribuição dos participantes, segundo a condição ocupacional e grupos de exposição - 2016 a 2017	51
Figura 3 - Representação gráfica da comparação de quartis de mercúrio urinário ($\mu\text{g/L}$) dos indivíduos expostos, não expostos e após cessar a exposição laboral - 2016 a 2017.....	56
Figura 4 - Representação gráfica da comparação das médias de concentração do mercúrio urinário ($\mu\text{g/L}$) dos indivíduos expostos, segundo a ocupação - 2016 a 2107	57
Figura 5 - Representação gráfico da comparação de quartis das concentrações de TSH, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017	64
Figura 6 - Representação gráfica do diagrama de dispersão, sobre a correlação entre as concentrações de T3Reverso e o do Hg urinário- 2016 a 2017.....	66
Figura 7 - Representação gráfica do diagrama de dispersão, sobre a correlação entre a duração do trabalho e as concentrações de mercúrio urinário ($\mu\text{g/L}$) - 2016 a 2017	67
Figura 8 - Representação gráfica da comparação de médias das concentrações de mercúrio urinário, segundo alteração de ecogenicidade do parênquima da tireoide - 2016 a 2017.....	72
Figura 9 - A: nódulo em terço superior do lobo direito, hipoecogênico, com áreas císticas de perimeio, de contornos irregulares, parcialmente delimitado por fino halo, com microcalcificações, medindo cerca de 2,1 x 1,3 x 1,1 cm. B: Vascularização do nódulo periférica e central. C: linfonodo nível III à direita	78
Figura 10 - A: Nódulo misto, no lobo direito, isoecogênico, delimitado por fino halo, com microcalcificações e calcificações grosseiras, medindo cerca de 7,6 x 5,0 x 5,7 cm. B: Doppler apresenta vascularização periférica e central equilibradas.....	82

Lista de quadros

Quadro 1 - Coeficientes de variação dos ensaios hormonais, selênio e iodo	33
Quadro 2 - Aspectos do parênquima da tireoide avaliados na ultrassonografia.....	35
Quadro 3 - Classificação do risco de malignidade dos nódulos tireoidianos, segundo índice de resistividade e padrão de vascularização	38
Quadro 4 - Sistema de classificação de nódulos tireoidianos (TI-RADS), segundo Comitê de Radiologia da American College of Radiology	39

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os efeitos deletérios do mercúrio (Hg) no sistema nervoso central, em diferentes formas químicas, têm sido descritos em diversos estudos, entretanto, a ação tóxica sobre a tireoide ainda é pouco compreendida. Experimentos em animais, expostos ao Hg, em diversas formas, mostraram evidências de alterações do parênquima e dos hormônios tireoidianos. A elevada deposição do metal na tireoide e a alta afinidade pelo selênio das desiodases podem ser fatores relevantes para a explicação dos seus efeitos tóxicos. **OBJETIVOS:** avaliar se a exposição crônica ocupacional ao Hg metálico pode estar associada a alterações da função hormonal tireoidiana, bem como do parênquima da glândula, mesmo depois de cessar a exposição. **MÉTODOS:** Realizado estudo seccional em 55 expostos ao Hg e 55 controles, do sexo masculino, pareados por idade. Analisadas as concentrações dos hormônios: T₃ total e livre (T₃T e T₃L), T₄ livre (T₄L) e TSH por eletroquimioluminescência, T₃ Reverso (T₃R) por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem, selênio (no sangue) e Hg na urina (HgU) por espectrofotometria de absorção atômica, iodo urinário por detecção indireta pela Reação de Sandell – Kolthoff, anticorpos anti-tireoperoxidase por ensaio imunoquimioluminométrico. A Ultrassonografia (US) Modo B e Dúplex-doppler da tireoide avaliou as dimensões, ecogenicidade, ecotextura, vascularização e nódulos. Os nódulos com aspecto suspeito de malignidade foram submetidos à punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e a análise citológica seguiu a classificação de Bethesda. A análise das variáveis contínuas utilizou os testes t ou U de Mann-Whitney e o Qui-quadrado para associação das variáveis categóricas. A correlação de Spearman utilizada para avaliar a relação entre as variáveis de exposição e as concentrações hormonais. O modelo de regressão logística univariada e múltipla foram empregados para análise do risco. O nível de significância dos testes foi $\alpha = 0,05$. **RESULTADOS:** a média de idade dos expostos ao Hg foi 55,2 anos ($\pm 6,6$ anos) e dos controles 53,4 anos ($\pm 6,8$ anos). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade dos grupos ($p=0,158$). A média das concentrações de Hg urinário, durante o período laboral, foi significativamente mais elevada em expostos (51,9 $\mu\text{g/L}$ versus 1,79 $\mu\text{g/L}$; $p<0,01$). A média de duração do período laboral foi de 14,5 anos ($dp=\pm 7,26$). A média das concentrações de TSH foi mais elevada em expostos (3,31 $\mu\text{IU/ml}$ versus 2,31 $\mu\text{IU/ml}$), com diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,030$). As concentrações de TSH excederam o limite de normalidade (4,20 $\mu\text{IU/ml}$) em 13 indivíduos expostos (27,3%) e em quatro controles (7,3%), com associação estatisticamente significativa entre a elevação de TSH e a exposição ao mercúrio ($p = 0,018$). No modelo de regressão logística, a exposição ao mercúrio mostrou uma razão de chances estatisticamente significativa para elevação das concentrações de TSH (OR=4,86; $p=0,038$). Não houve diferença estatisticamente significativa da relação T₄L:T₃L entre os indivíduos expostos e o grupo controle ($p=0,791$). As médias das concentrações dos hormônios T₃, T₃L e T₄L não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$). A comparação de médias das concentrações de T₃ Reverso mostrou um valor de p próximo do nível de significância do teste ($p = 0,06$). As proporções de alterações da ecogenicidade foram maiores em expostos (27,3% versus 9,1 %; $p=0,026$), com associação estatisticamente significativa à exposição ao Hg. Não foi observada associação, estatisticamente significativa, entre a exposição ao Hg e o padrão heterogêneo de ecotextura, ou o aumento de vascularização do parênquima ($p>0,05$). A presença de nódulos foi similar entre os grupos. O exame citológico identificou a presença de carcinoma papilífero de tireoide em três indivíduos expostos e um controle. O anatomopatológico confirmou a presença de carcinoma papilífero em quatro indivíduos e identificou o carcinoma folicular em um dos controles. **CONCLUSÕES:** Os resultados deste estudo mostraram a presença de elevação das concentrações de TSH, e alterações do parênquima tireoidiano, mais frequentes entre os trabalhadores expostos ao Hg, mesmo depois de cessar a atividade laboral, indicando a importância do monitoramento da tireoide.

Palavras chaves: 1. Mercúrio 2. Intoxicação por mercúrio 3. Exposição ambiental 4. Tiroxina 5. Selênio 6. Ultrassom

ABSTRACT

INTRODUCTION: The deleterious effects of mercury (Hg) on the central nervous system, in different chemical forms, have been described in several studies, however, the toxic action on the thyroid is still little understood. Experiments in animals exposed to mercury (Hg), in different states, showed parenchymal and thyroid hormones alterations. The accumulation of metal on thyroid and high affinity for selenium of deiodinases can be a relevant factor for the explanation of his toxic effects. **OBJECTIVE:** Evaluate the occupational exposure of metallic Hg and its association with the hormones and thyroid parenchyma alterations, even after the labor exposure was discontinued. **METHODS:** A sectional study in 55 exposed and 55 control males, paired by age was conducted. Serum dosages of total triiodothyronine (T_3), free T_3 (TT_3 and FT_3), free T_4 (FT_4) and TSH were obtained by electrochemical luminescence, the reverse T_3 (RT_3) by chromatography, selenium (blood), urinary Hg (U-Hg) by atomic absorption spectrophotometry, anti-thyroid peroxidase antibody by immunochemiluminometric assay, urinary iodine by Sandell-Kolthoff reaction. The thyroid parenchyma was evaluated by B-mode ultrasonography with Doppler. The nodules with suspicious aspect of malignancy were submitted to aspiration puncture with a thin needle. The t-test, or Mann-Whitney, chi-square and Spearman correlation were performed. For the risk analysis a univariate and multivariate logistic regression model was used ($\alpha = 0.05$). **RESULTS:** The mean age of the exposed to Hg was 55.2 years ($SD \pm 6.6$ years) and controls was 53.4 years ($SD \pm 6.8$ years). The U-Hg average was significantly higher in exposed (51.9 $\mu g/L$ versus 1.79 $\mu g/L$; $p=0.000$). The longer work duration was 14.5 years ($SD \pm 7.26$ years). TSH concentrations exceeded the normality limit (4.20 $\mu IU/ml$) in 13 exposed individuals (27.3%) and four controls (7.3%), with a statistical significant association between the increase in serum TSH and exposure to mercury ($p = 0.018$). In the logistic regression model, the exposure to mercury (yes or no) showed a predictive value to the increase of TSH concentrations ($OR=4.86$; $p=0.038$). There was no statistical significant difference in the $T4L:T3L$ ratio between the exposed individuals and the control group ($p=0.791$). The mean concentrations of the hormones T_3 , $T3L$ and $T4L$ showed no statistically significant difference between the groups ($p > 0.05$). The comparison of means of the Reverse T_3 concentrations showed a p value borderline ($p = 0.06$). The proportions of the echogenicity alterations were higher at the exposed group (27.3% versus 9.1 %; $p=0.026$). There was no statistical significant association between the exposure to Hg and the thyroid echotexture pattern or parenchyma increased vascularization ($p>0.05$). It was observed a papillary carcinoma in three exposed and one control individual and a follicular in one control. **CONCLUSIONS:** The results of this study showed the higher serum TSH concentration and prevalence of parenchyma alteration in the Hg exposed group, after cessation of exposure, and indicate the importance of the thyroid monitoring.

Key-words: 1. Mercury 2. Mercury poisoning 3. Environmental exposure 4. Thyroxine, 5. Selenium 7. Ultrasonics

1. INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O mercúrio metálico é um metal líquido, conhecido desde a Grécia antiga, sendo denominado de hidrargírio, ou água prata, por seu aspecto fluido em temperatura ambiente (Clarkson, 1997).

O mercúrio (Hg) pode apresentar-se em diferentes estados como: o metálico, os sais inorgânicos, ou mercúrico, e na forma de compostos orgânicos, sendo o metilmercúrio o mais conhecido (Holmes, 2009).

No meio ambiente, cada uma destas formas pode sofrer conversões e reações de oxidação, redução, metilação e dimetilação envolvendo o transporte do Hg em escala global (Holmes, 2009). As diversas formas de Hg determinam uma ação tóxica importante, mas o quadro clínico e as vias de entrada no organismo variam de acordo com as suas estruturas químicas. O presente estudo foi circunscrito à forma metálica, por ser a forma utilizada em indústrias de lâmpadas e fabricação de aparelhos de precisão.

O Hg está presente na crosta terrestre em concentrações de aproximadamente 80 $\mu\text{g/Kg}$ e pode se desprender e atingir o meio ambiente, em determinados períodos, por meio de emissões vulcânicas. A principal fonte no ambiente é proveniente das atividades antropogênicas como a mineração e os processos industriais (WHO, 2003).

As propriedades físico-químicas como mobilidade, condutividade, elevada tensão superficial, estabilidade química e capacidade de amalgamar-se com outros elementos químicos e metais, conferem ao Hg metálico a possibilidade de uso em diversas atividades industriais (Zavariz, 1999).

A exposição ocupacional pode ocorrer em atividades como a produção de cloro e álcalis; fabricação de lâmpadas, pilhas, termômetros e barômetros; tratamento do couro; na mineração; no garimpo de ouro; na preparação de amálgama em odontologia (WHO, 2003; Faria, 2003).

O Hg tem elevada pressão de vapor, é altamente volátil e pode saturar facilmente a atmosfera, atingindo concentrações de 15 mg/m³ na temperatura ambiente de 20° C. (WHO, 1991). Esta concentração é muito superior ao limite de exposição ocupacional estabelecido pela Organização Mundial de Saúde, cujo valor corresponde a 0,05 mg/m³ (WHO, 1991).

A Associação de Higienistas - American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH, 2013) - recomenda o limite máximo de exposição de 0,025 mg/m³ de ar para a jornada de trabalho de 40 horas semanais. No Brasil, a Norma Regulamentadora do Ministério do Trabalho N° 15 estabelece como limite o valor de 0,04 mg/m³ para jornada de 48 horas semanais.

Ramazzini (1700), o primeiro médico que descreveu a relação entre o trabalho e o surgimento de doenças, relatou os graves efeitos ocasionados pelo Hg em ourives. O autor relata a mortalidade precoce dos trabalhadores e a grande intensidade dos danos neurológicos e respiratórios causados pelo Hg.

Embora o quadro clínico da intoxicação por Hg seja conhecido desde os séculos passados, ainda existem lacunas referentes aos mecanismos de toxicidade, especialmente sobre os efeitos no sistema endócrino. O avanço do conhecimento sobre o mercurialismo poderá fornecer elementos para discussão de medidas de controle da

exposição ocupacional e incentivar a melhoria do diagnóstico, do tratamento e da prevenção da doença.

1.1 Usos e fontes de exposição ocupacional ao mercúrio metálico

Níveis elevados de exposição ocupacional têm sido relatados em países envolvidos nas atividades de mineração de Hg e do ouro, na produção de cloro e álcalis, em refinarias, indústrias de termômetros e clínicas dentárias (WHO, 1991).

O Hg ainda é amplamente utilizado em diversas regiões do mundo, especialmente em países onde as legislações ambientais e trabalhistas são menos restritivas (Clarkson, 1997).

Segundo dados do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA, 2006), a mineração de ouro foi responsável pela utilização de 24% do Hg, seguido pela produção de policloreto de vinila (PVC) (21%), produção de cloro-álcalis (15%), baterias (13%), materiais odontológicos (8%), equipamentos de precisão e eletroeletrônicos (7%).

Até a década de 80, a produção de cloro e álcalis, foi responsável por 80% do consumo do Hg importado pelo Brasil, mas com as mudanças legais, a utilização industrial foi se reduzindo e o garimpo passou a ser principal fonte de importação (Lacerda, 2007).

As principais fontes de exposição ocupacional são relacionadas às atividades descritas a seguir.

- Fabricação de lâmpadas fluorescentes e de vapor de Hg.

O processo de produção envolve as etapas de preparo dos tubos com a modelagem por aquecimento, a seguir, uma fina camada de fósforo é aplicada na superfície interna para gerar a luz, a partir da ionização do Hg. As pontas dos tubos são seladas em máquinas, com o processo de aquecimento, para receber os componentes elétricos - os fios catódicos. A selagem dos fios também é feita em altas temperaturas. A seguir as máquinas injetam o Hg nas lâmpadas, por fim é adicionada a tampa para recobrir os fios e evitar o risco de vazamento. A aplicação do Hg é essencial para converter a luz ultravioleta em luz visível (Santos et al., 2015).

A quantidade de Hg empregada em cada tubo pode variar de um tipo para outro, de acordo com o tamanho e diâmetro do bulbo. Conforme estudo realizado por Zavariz (1994), em indústrias de fabricação de lâmpadas, a quantidade de Hg variava entre 12 e 120 mg por lâmpada.

A partir do ano 2000 esta quantidade foi reduzida em cerca de 40% e, atualmente, as concentrações atingem no máximo cinco mg por lâmpada (Lacerda, 1997; Santos et al., 2015). Os processos produtivos também foram modificados nas últimas décadas, substituindo o emprego do mercúrio líquido, por cápsulas, em máquinas injetoras. Esta medida favorece a redução da quantidade utilizada nas lâmpadas.

O Brasil ocupa a posição de quarto país com maior consumo de lâmpadas fluorescentes no mundo e são descartadas anualmente, em aterros sanitários, quase 85 milhões de lâmpadas, com impacto considerável para o meio ambiente (Santos et al., 2015).

No estudo realizado por Zavariz (1994), os principais riscos encontrados em indústrias de fabricação de lâmpadas, do estado de São Paulo, foram: calor excessivo,

piso inadequado - favorecendo o acúmulo de metal, grande quantidade de lâmpadas quebradas; presença de mercúrio embaixo das máquinas bombeadoras e falta de tratamento dos efluentes.

- Produção de cloro e álcalis.

Esta atividade está entre os processos industriais que mais utilizam Hg (WHO, 1991).

Segundo Zavariz (1994), no estado de São Paulo, foram consumidos 29.080 Kg de Hg entre 1991 e 1992 nas indústrias deste setor.

O processo produtivo inicia com a entrada da salmoura e do Hg pelas extremidades da cuba. A seguir, ocorre a passagem de corrente elétrica para liberação do cloro em estado gasoso, que é captado na tubulação da parte superior da célula. O Hg, misturado ao sódio que restou na célula, forma um amálgama que é direcionado para a pilha da célula. Nesta parte da célula, ocorre a reação com a água, gerando a soda cáustica e o hidrogênio em estado gasoso. Depois da separação, o Hg retorna para o processo, sob a forma metálica (Zavariz, 1994).

Em cada célula, são depositados, aproximadamente, 1.295 Kg de Hg. O fundo da cuba fica recoberto por uma camada deste metal, denominada de lama mercurial.

As atividades com maior risco de exposição dos trabalhadores são as operações de limpeza do decantador, quando é realizada remoção da lama de Hg do fundo da cuba; a troca de filtros dos tanques; a reposição de Hg da cuba, a coleta de amostra para análise (Zavariz, 1994). A manutenção e reparo de células também envolvem grandes exposições, pois é necessário remover a lama mercurial e realizar a limpeza, ou reparos, de peças com resíduos de Hg.

- Produção de aparelhos de precisão.

Os principais riscos de exposição ocorrem no enchimento das colunas de vidro com o Hg e na remoção do metal dos aparelhos, para realização de reparos. As exposições são maiores em empresas cujo processo é mais artesanal (Zavariz, 1994). As empresas deste ramo apresentavam situações muito precárias no local de trabalho e nenhuma delas realizava avaliação ambiental das concentrações de Hg para controle das exposições.

- Garimpo.

O garimpo é uma das atividades que mais ocasionam contaminação pelo Hg, não apenas para os trabalhadores, mas também para população que mora no entorno das atividades de mineração (Doering et al., 2016).

Os estados do Brasil que mais desenvolvem estas atividades, atualmente, são: Amazonas, Pará e Mato Grosso.

Câmara (1998) descreve que o processo inicia com a aplicação de um forte jato de água, na área onde está sendo procurado o ouro, para desmontar os barrancos ou cascalho. A seguir, esta mistura de água e terra é sugada por bombas e direcionada para uma caixa de madeira, na qual será adicionado o Hg, para busca do ouro. Por fim é retirado o excesso de água e a amálgama entre o ouro e Hg será separada por aquecimento. Geralmente é utilizado um maçarico, ocasionando grande exposição ao Hg, que se volatiliza com o calor.

- Serviços de odontologia.

Diversos estudos têm relatado a exposição de profissionais de odontologia ao Hg no preparo e utilização de amálgama em preenchimento de cavidades dentárias (Faria

2003; WHO, 2003; Stonehouse e Newman, 2001; Moen et al., 2008; Neghab et al., 2011). As exposições podem ocorrer, por acidentes, por falhas dos aparelhos amalgamadores, levando ao derramamento, ou vazamentos durante o abastecimento com o Hg na forma líquida. O contato também pode ocorrer por derramamento de restos da liga de amálgama fora da cavidade dentária, contaminando o ambiente de trabalho, ou se o amalgamador estiver desregulado e adicionar quantidades elevadas de Hg à liga metálica (amalgamador gravitacional). A torção do amálgama dental em lençol de camurça, para remoção de excessos mercuriais, também aumenta a exposição dos dentistas e auxiliares de consultório (Phillips, 1984). Esta técnica tem sido substituída pela utilização de aparelhos amalgamadores.

Existem muitas discussões sobre o uso controlado do Hg ou a sua substituição nos materiais odontológicos, mas não será objeto de avaliação deste estudo.

- Outras fontes de exposição

O Hg também foi utilizado como fungicida na agricultura, na produção de cosméticos e na confecção de chapéu de feltro nos séculos passados. Outras possíveis exposições são relacionadas à fabricação de pilhas, produção de vacinas, às atividades de reciclagem de lâmpadas e cremação (WHO, 1991).

1.2 Efeitos tóxicos do mercúrio metálico

O efeito tóxico do Hg depende da intensidade e frequência da exposição, da concentração absorvida e da suscetibilidade individual (Faria, 2003).

A alta volatilidade da forma elementar favorece a sua entrada pela via respiratória e, depois de atingir os pulmões, cerca de 80% do metal é absorvido nos alvéolos. Após a absorção, ele é transportado pelo sangue para diversos órgãos como a

tireoide, pituitária, rins, pâncreas, gônadas e principalmente para o cérebro (WHO, 1991). A excreção do Hg ocorre principalmente pela urina e a sua meia vida depende da taxa de reações de redução nestes órgãos, podendo variar entre alguns dias até vários meses (WHO, 2003). No sistema nervoso central, a meia vida é maior que os demais órgãos, podendo durar muitos anos (Bernhoft, 2012).

A elevada lipossolubilidade e o alto coeficiente de difusão favorecem a passagem pela barreira hematoencefálica e a acumulação do Hg em órgãos ricos em lipídios como o sistema nervoso central (Clarkson, 1997; WHO, 2003; Florea e Busselberg, 2006). Além desta facilidade de distribuição, a perda de Hg no sistema nervoso é mais lenta quando comparada aos outros órgãos (Berlin et al., 1969). Esta deposição pode ser um dos fatores que contribuem para sua ação tóxica.

Os estudos de Moller-Madsen (1992) sobre a localização celular do Hg metálico no sistema nervoso central, em ratos *wistar*, mostraram que, em concentrações mais baixas ($50\mu\text{g}/\text{m}^3$), o metal se distribuía em torno de vasos, mas elevando a dose de exposição para $500\mu\text{g}/\text{m}^3$, ele atingiu os gânglios da base, núcleo caudado, putâmen, medula, mesencéfalo e cerebelo. Quando a concentração atingiu $550\mu\text{g}/\text{m}^3$, o metal alcançava até o isocórtex e hipocampo.

A intoxicação pode ocorrer em qualquer faixa etária da população exposta aos vapores de Hg, tais como crianças e adolescentes, mas o risco maior é para os trabalhadores expostos (WHO, 1991; Fagala, 1992; Rossini, 2000; Holmes, 2009; Faria, 2003; Powell, 2000; Cordeiro et al., 2003).

A exposição a concentrações elevadas de metal pode desencadear um quadro de intoxicação aguda, com sintomas de dor torácica, dispneia, tosse, hemoptise, alteração

da função pulmonar, pneumonite, hemorragia pulmonar, e até evoluir ao óbito (WHO 2003).

Nas exposições crônicas ao Hg, o órgão mais atingido é sistema nervoso, resultando no quadro denominado de eretismo mercurial, que se manifesta com aparecimento de gengivite, tremores de extremidades, mudanças de comportamento e do humor (Clarkson, 1997; Tirado et al., 2000; Clarkson e Magos, 2006; Bernhoft, 2012).

Com o decorrer da exposição, podem surgir outros sintomas como: irritabilidade, insônia, cefaleia, tontura, astenia, fraqueza muscular, perda de memória, tremores finos de extremidades, alteração da habilidade motora, sangramento da gengiva e perda dentária (WHO, 1991; Faria, 2003; WHO 2003; Park, 2012). Também podem ocorrer reações psicóticas, caracterizadas por delírios, alucinações e tentativa de suicídio (Faria, 2003).

Faria (2003) classifica a intoxicação crônica em duas categorias: o mercurialismo crônico durante a exposição (MCDE) e o mercurialismo crônico depois de cessar a exposição (MCCE).

No MCDE podem ser observados os sintomas do eretismo psíquico e a elevação do Hg na urina (Faria, 2003). O quadro é caracterizado pela gengivite, tremores e alteração do humor. O tremor é denominado intencional, ocorrendo inicialmente nos lábios e mãos e depois pode agravar-se dificultando a realização de tarefas manuais. Faria (2003) relata que estes tremores apresentam correlação com níveis elevados de Hg na urina. Além destas alterações, mais raramente, podem surgir o aumento da tireoide, o dermatografismo e a taquicardia. Também pode ocorrer neuropatia periférica, alteração da visão de cores e distúrbios de memória. A alteração de visão foi observada em

trabalhadores que tinham, em média, valores de Hg urinário igual a 61 µg/g de creatinina.

O MCCE é caracterizado pela redução das manifestações de gengivite e tremores, entretanto, as alterações cognitivas e emocionais podem persistir, ou até agravar-se. As alterações podem ser encontradas vários anos após cessar a exposição. Nesta fase, o Hg urinário retorna aos valores normais (Faria, 2003).

Além dos distúrbios neuropsiquiátricos, exposições elevadas aos vapores de Hg podem ocasionar lesão renal glomerular ou tubular (Faria, 2003; WHO 2003; Holmes, 2009).

A lesão glomerular é secundária à formação de anticorpos, ocasionando a glomerulonefrite, com perda de proteínas de baixo peso molecular na urina. A análise da excreção de proteínas, como a n-acetil-β-glicosaminidase e a β-2-microglobulina, é útil para avaliar efeitos tóxicos do Hg sobre os rins. As lesões tubulares decorrem da deposição e acúmulo de Hg ocasionando necrose e danos aos túbulos proximais (Faria, 2003).

Nos olhos, a deposição de partículas de Hg no cristalino pode levar ao aparecimento de uma mancha na cápsula anterior do cristalino, geralmente bilateral e simétrica (Zavariz, 1999). Este sinal pode auxiliar no diagnóstico, porém não é constante.

O Hg também pode se depositar na tireoide, no miocárdio, músculos, glândulas adrenais, fígado, rins, pele, glândulas sudoríparas, pâncreas, testículos e pode estar associado com disfunções destes órgãos.

Na forma metálica, o Hg foi classificado pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer como Grupo III, isto é, possivelmente não carcinogênico para humanos (HOLMES, 2009).

1.3 Indicador biológico de exposição ocupacional

Os indicadores biológicos de exposição são utilizados para estimar a dose interna, ou quantidade absorvida pelo organismo, por meio da análise de uma determinada substância química, ou de seus metabólitos, presentes em fluídos biológicos (Amorim, 2003).

Estudos comparativos dos indicadores biológicos mostraram que, na forma orgânica, as dosagens de Hg no sangue e no cabelo apresentam boa correlação com a exposição, mas, na forma metálica, a análise da urina é um estimador mais preciso (Holmes, 2009). As concentrações estáveis na urina e a facilidade da coleta da amostra favorecem a aplicação do exame no monitoramento ocupacional (Ye et al, 2016).

Entretanto, alguns autores consideram que o indicador não apresenta boa correlação com o Hg depositado em órgãos como o sistema nervoso central, não podendo ser usado de forma isolada no diagnóstico da intoxicação (Faria, 2003; Gattineni, 2007; Ye, 2016).

No Brasil, a Norma Regulamentadora do trabalho Nº 7 estabelece como limite máximo para exposição ocupacional o valor 35 µg/g de creatinina (Brasil, 1994).

O limite máximo para o Hg na urina, recomendado pela ACGIH, foi estabelecido por meio de estudos epidemiológicos e toxicológicos, visando à prevenção dos efeitos neurotóxicos, ou dos danos renais, decorrentes de exposições crônicas dos trabalhadores (ACGIH, 2013).

Nestes estudos, observou-se que mesmo em concentrações inferiores a 35 µg/g de creatinina, poderiam ocorrer alterações de memória nos trabalhadores expostos por períodos prolongados. Deste modo, a recomendação dos higienistas foi alterada, em 2013, para o nível máximo de 20 µg/ g (ACGIH, 2013).

1.4 Efeitos do mercúrio sobre a função e a glândula tireoidiana

Experimentos em animais, utilizando as formas orgânicas e inorgânicas do Hg, mostraram evidências suficientes de distúrbios da organificação do iodo na tireoide e alterações funcionais e morfológicas da glândula (Zhu et al., 2000; Tan et al., 2009; Mulder et al., 2012). As alterações hormonais variaram de acordo com a espécie estudada, o tempo de exposição e a forma química utilizada. Tan et al. (2009) apontam que a tireoide, apesar das diferenças anatômicas, possui funções e regulação do eixo hipotalâmico–hipofisário muito similares em vertebrados, favorecendo o estudo dos efeitos tóxicos do Hg em espécies como anfíbios e peixes. Contudo, estes experimentos ainda não permitem o estabelecimento de curvas dose-resposta ou extrapolação dos resultados para humanos.

A alta afinidade do metal por grupos sulfidríla pode levar à formação de ligações complexas e resultar em inibição da função de selenoenzimas como as iodotironinas desidases (Sin et al., 1990; Ellingsen et al.; 2000, Soldin et al.; 2008; Pantaleão et al., 2017). Estas enzimas exercem um papel importante na conversão de tiroxina (T4) em tri-iodotironina (T3), considerando que a glândula produz cerca de 20% deste hormônio e o restante é convertido por sua ação no sistema nervoso central e outros órgãos. O sítio ativo destas enzimas é constituído de um resíduo selenocisteína e o selênio é um componente essencial de sua estrutura (Choi et al.; 2008). Acredita-se que o selênio é o

receptor de iodeto durante as reações de deiodinação, e a substituição dos resíduos de selenocisteína reduz a eficiência catalítica das desiodases (Soldin et al., 2008).

A deposição do Hg na tireoide, associada à afinidade do metal pelo o selênio, leva à formação de ligações muito estáveis (Zhu et al., 2000; Falnoga et al., 2006; Guzzi et al., 2006; Soldin, 2008). A interação entre o Hg e o selênio pode interferir na biodisponibilidade deste micronutriente e, deste modo, alterar a função destas enzimas (Hansen et al., 1988; Bulato et al., 2007; Soldin et al., 2008).

Em estudos de necropsia foram encontradas concentrações elevadas de Hg na tireoide dos mineradores de Idrija, mesmo após o afastamento da exposição (Kosta et al., 1975; Falnoga et al., 2000).

Björkman et al. (2007), em estudos de autópsias, encontraram forte associação entre o número de restaurações de amalgama e a presença de Hg inorgânico na tireoide. Os autores relatam que as concentrações mais elevadas de Hg estavam associadas à maior deposição do metal em órgãos.

Barregard et al. (1994) realizaram um estudo caso-controle, envolvendo 41 trabalhadores expostos ao Hg, nos quais foram observadas elevações leves, mas significantes ($p=0,0005$), de T4 livre (T4L) e alteração da relação T4 livre/T3 livre. Os níveis de T3 livre (T3L) estavam inversamente relacionados com a exposição cumulativa ao Hg. Os autores relatam a possibilidade do efeito inibitório sobre as desiodases levar à redução da conversão do T4 em T3.

Alterações similares foram encontradas por Ellingsen et al. (2000), em 47 trabalhadores expostos ao Hg, em média por 13,5 anos e 47 controles, pareados por gênero e idade. A concentração de T3 reverso (T3R) e a relação T4 livre/T3 livre foram significativamente maiores ($p=0,009$) entre expostos. A alteração foi mais acentuada nos

grupos com maior tempo de exposição e maior concentração cumulativa de Hg. Os autores também relatam que estes efeitos podem ser decorrentes da inibição enzimática.

A inibição da desidrase tipo 2 foi bem demonstrada por Mori et al. (2007), em um estudo realizado com células de tumor pituitário de ratos incubadas com metil Hg. Os autores observaram redução da enzima, com consequente diminuição do estímulo de T3 sobre o hormônio de crescimento produzido nas células hipofisárias.

Em uma pesquisa populacional realizada por Yorita e Krista (2012), abrangendo 1.587 adultos, foi investigada a associação entre biomarcadores de exposição a metais e os níveis de hormônios tireoidianos nestes indivíduos. Os resultados da análise de regressão múltipla mostraram associação entre o Hg e redução dos níveis de T3 e T4. Os autores discutem a possibilidade de a elevada prevalência de exposição ambiental aos metais estar contribuindo para elevada frequência de doenças tireoidianas na população.

A associação entre o Hg e níveis de hormônios tireoidianos também foi observada no estudo de 75 mães e recém-nascidos, comparando os grupos com maior ou menor número de restaurações de amálgama e a proximidade do local de residência a áreas industriais (Ursinyova et al., 2012). Os autores avaliaram a relação entre o Hg e os níveis de hormônios tireoidianos, no momento do parto e no sexto mês de vida da criança. As mães apresentaram associação inversa entre o Hg e o T3 livre e os recém-nascidos tiveram uma correlação negativa entre os níveis de TSH e T3 (total e livre) com os níveis de Hg total materno. Os valores de T4 total e livre foram mais baixos em mães com maior número de restaurações dentárias com amálgama. Os autores concluem que mesmo em níveis baixos de exposição ao Hg, os hormônios tireoidianos podem ser afetados durante o período gestacional e pós-natal, dependendo da forma do metal, gênero da criança e número de preenchimentos dentários de amálgama da mãe.

Resultados semelhantes foram observados em outro estudo, envolvendo 149 gestantes, que haviam sido expostas a baixas doses de Hg, proveniente da contaminação ambiental. Verificou-se uma relação inversa entre os níveis de T3 e Hg no sangue, bem como dos níveis de bifenila policlorada, mas independentes. Foram também observadas alterações de T4 livre no sangue do cordão umbilical associadas ao Hg inorgânico (Takser et al., 2005).

Llop et al. (2015) realizaram um estudo de coorte em 1.407 gestantes para avaliar o sinergismo entre o Hg e a suplementação de iodo. Os autores observaram uma associação inversa entre o Hg e as concentrações de T3 no sangue. A associação foi mais significativa quando as mulheres recebiam suplementação de iodo.

Estes estudos, ocupacionais e ambientais, destacam a importância de confirmar os efeitos do Hg sobre os hormônios tireoidianos em humanos, uma vez que eles desempenham um papel importante no metabolismo celular e no desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC).

Além dos efeitos sobre a função hormonal tireoidiana, nas últimas décadas, alguns estudos têm apontado possíveis relações entre o Hg e o aumento de nódulos tireoidianos.

Segundo Benvenga et al. (2015), o aumento de incidência de nódulos tireoidianos na população de Beijing e Guangzhou pode estar relacionado ao aumento da poluição ambiental. Os autores relatam que estas províncias tiveram uma incidência três vezes maior de neoplasia tireoidiana entre 2000 e 2011, quando as cidades atingiram níveis muito elevados de poluentes atmosféricos. Entre os poluentes, foi apontado o Hg como um dos possíveis agentes relacionados a alterações da tireoide.

Baccarelli et al. (2000) também discutem a possibilidade da alteração de balanço entre o T4 livre e T3 livre, encontrada nos estudos de Barregard et al. (1994), levar ao aumento de TSH, por redução do T3 livre. Os autores relatam que esta elevação hormonal pode ocasionar efeitos sobre parênquima da tireoide, promovendo a hiperplasia e hipertrofia da glândula. Entretanto, poucos estudos têm sido realizados para avaliação destes efeitos.

Nos estudos de necropsia, realizados em mineradores e profissionais de odontologia, foram encontradas concentrações mais elevadas de Hg na tireoide destes trabalhadores, em relação aos controles (Kosta et al., 1975; Falnogo et al. 2000; Bjorkman et al., 2007). Contudo, não foram avaliados aspectos relativos ao parênquima tireoidiano nestes estudos.

Os estudos dos trabalhadores expostos, sobre possíveis efeitos do Hg metálico na tireoide, foram dirigidos para avaliação da função hormonal, contudo, não foi avaliado nestas pesquisadas se ocorrem alterações do parênquima da glândula.

O Serviço de Saúde Ocupacional (SSO) do Hospital das Clínicas de São Paulo tem acompanhado, desde 1997, indivíduos que tiveram exposição ocupacional ao Hg metálico e apresentam sintomas neuropsíquicos persistentes.

O seguimento destes pacientes possibilita a realização de estudos epidemiológicos para investigar se há associação entre alterações tireoidianas e a exposição crônica ocupacional ao Hg metálico, bem como avaliar o aspecto morfológico da glândula.

2. JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

O quadro clínico da intoxicação por Hg é conhecido há longa data, contudo, ainda existem lacunas referentes aos mecanismos de ação tóxica das diferentes formas químicas e a duração dos efeitos (Faria, 2003). Investigar se o Hg interfere nos níveis de T₃ (fração mais ativa dos hormônios) e aumenta o T₃ reverso, poderá auxiliar na compreensão dos mecanismos de toxicidade. Investigar se as alterações hormonais e enzimáticas são persistentes, mesmo depois do afastamento da exposição, permite um melhor entendimento dos efeitos crônicos da intoxicação. A alteração dos hormônios tireoidianos em adultos pode levar a distúrbios cognitivos e comportamentais, mas de forma diferente da que ocorre no hipotireoidismo neonatal (Pilhatsch et al., 2011). O desequilíbrio hormonal está relacionado à alteração da velocidade de processamento da informação, redução das funções executivas e dificuldade de aprendizado. Além das alterações cognitivas, o hipotireoidismo é associado com aumento de suscetibilidade à depressão. Estruturas límbicas, em que os receptores tireoidianos são prevalentes, têm sido relacionadas na patogênese dos distúrbios de humor. Muitos estudos revelam a interação dos hormônios com neurotransmissores que exercem um papel importante no humor, como a serotonina e noradrenalina (Pilhatsch et al., 2011).

Sintomas de depressão, alteração de memória e de humor frequentemente são observados na intoxicação crônica, contudo, ainda é pouco compreendido se há associação entre estas manifestações e a presença de alterações hormonais.

O avanço do conhecimento sobre o mercurialismo metálico pode fornecer elementos para discussão de medidas de controle da exposição e, além disso, incentivar, no país a melhoria do diagnóstico, tratamento e prevenção da intoxicação.

3. HIPÓTESES

3 HIPÓTESES

- A primeira hipótese da pesquisa é que existe associação entre a exposição crônica ao Hg metálico e inibição de selenoenzimas, interferindo na função hormonal tireoidiana, levando à alteração da relação entre T4L e T3L, à redução de T3 livre e ao aumento de T3R, mesmo depois de cessar a exposição ocupacional.

- A segunda hipótese é que os trabalhadores expostos ao Hg têm maior prevalência de alterações estruturais da glândula, em decorrência das alterações hormonais, ou por deposição de metal na glândula.

4. OBJETIVOS

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

- Avaliar se existe associação entre a exposição crônica aos vapores de Hg e alteração da função hormonal tireoidiana e do parênquima da glândula, mesmo depois de cessar a exposição.

4.2 Objetivos específicos

1. Avaliar se há alteração da relação entre T4L e T3L, por redução do T3L, nos expostos ao Hg.
2. Avaliar se há associação entre as alterações hormonais (TSH, T3R, T3L e T4L) e a exposição ocupacional ao Hg.
3. Avaliar se há associação entre as alterações hormonais (TSH, T3R, T3L e T4L) e o tempo de exposição ao Hg.
4. Avaliar a presença de alterações do parênquima tireoidiano em expostos ao Hg.

5. MÉTODOS

5 MÉTODOS

Realizou-se um estudo epidemiológico transversal, de expostos e não expostos ao Hg metálico, conduzido na Disciplina de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

5.1 Seleção dos participantes

A seleção ocorreu no ambulatório do Serviço de Saúde Ocupacional (SSO) do Hospital das Clínicas FMUSP, no período de 2016 a 2017.

Foi elaborado um convite para constituição do grupo controle, contendo informações sobre os exames a serem realizados, os objetivos e responsáveis pela condução do estudo. Divulgou-se o convite para os profissionais do Hospital das Clínicas, bem como os acompanhantes de pacientes do SSO e do Serviço de Urologia.

Os participantes do grupo exposto foram selecionados no cadastro de pacientes do SSO.

Todos os participantes foram convidados a participar voluntariamente do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

5.2 Critérios de elegibilidade

Foram selecionados indivíduos do sexo masculino, considerando a incidência mais elevada de doenças tireoidianas no sexo feminino.

- Grupo exposto

Os indivíduos foram selecionados no cadastro de pacientes do SSO, após identificar que exerciam atividades ocupacionais em indústrias de lâmpadas

fluorescentes, produção de cloro-álcalis e fabricação de termômetros, que empregam o Hg metálico em seus processos produtivos. Foram considerados elegíveis indivíduos com história ocupacional de exposição ao Hg metálico por período superior a um ano.

Nas ocupações em que houve exposição ao Hg metálico, foram obtidas informações sobre as tarefas desenvolvidas, a frequência de contato, e estimado o tempo de exposição pela duração da atividade laboral. Estas informações foram obtidas por aplicação de questionários e por observação do registro ocupacional na carteira de trabalho.

Além do histórico ocupacional, foram obtidas informações, nos registros médicos, sobre os exames toxicológicos (Hg urinário), realizados durante o período laboral.

O Hg urinário é o exame toxicológico utilizado no Brasil como indicador biológico de exposição ocupacional, no entanto, a interpretação de seus resultados apresenta algumas limitações. Existem muitas oscilações da excreção de Hg no decorrer do dia e entre os dias de trabalho, mesmo com exposições constantes (Kark, 1994; Zavariz, 1999; WHO, 2003). A severidade ou o diagnóstico da intoxicação nem sempre podem ser preditos pelo Hg urinário (Kark, 1994; WHO, 2003). Quando o indivíduo é afastado da exposição, a excreção urinária diminui, mas os efeitos tóxicos ainda podem estar presentes (Faria et al., 2003).

Considerando estes fatores, além do exame toxicológico, foi investigada a presença de sintomas que podem ser associados à exposição crônica ao Hg.

- Controles

Foram incluídos indivíduos do sexo masculino, pareados aos expostos por idade (entre 40 e 70 anos), sem antecedentes de exposição a metais, ou pesticidas, que assentiram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram obtidas informações sobre tabagismo, consumo de álcool e drogas, número de preenchimentos dentários com amalgama e antecedentes de doenças pessoais e familiares. A dosagem de Hg urinário foi realizada para exclusão de possíveis exposições ao metal.

5.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos indivíduos que realizaram tratamento com medicações, que podem interferir na função tireoidiana, como a amiodarona, o carbonato de lítio, corticoide, ou que receberam terapia com iodo radioativo, ou outras formas de radioterapia. Também foram excluídos os portadores de doenças tireoidianas em curso do tratamento, indivíduos com nefropatia ou hepatopatia grave. As exposições ocupacionais ao chumbo, cádmio, pesticidas, radiações ionizantes, bem como a adição por consumo de cocaína e o abuso de álcool, também compõem os critérios de exclusão.

Foram excluídos indivíduos do sexo feminino, considerando a prevalência mais elevada de tireoidites em mulheres (Lee et al., 2015).

5.4 Tamanho da amostra

Foi selecionada de forma similar aos estudos de ELLINGSEN et al. (2000), considerando a diferença encontrada de 12% nas concentrações do T₃R entre os casos e controles. A amostra foi calculada para um δ de 10%, um poder de estudo de 80% e um erro tipo α igual a 5%, determinando-se a necessidade de 55 expostos e 55 controles.

5.5 Casuística

Foram identificados no cadastro do Serviço de Saúde Ocupacional 247 registros de pacientes expostos ao Hg metálico, sendo 183 (74,1%) do sexo masculino e 64 (25,9%) do sexo feminino.

Preenchiam os critérios de elegibilidade do estudo 78 pacientes do sexo masculino, com idade entre 40 e 70 anos. Entre os pacientes elegíveis, verificou-se que dois tinham evoluído ao óbito e dez haviam interrompido o seguimento ambulatorial. Além destes, foram identificados 11 indivíduos realizavam tratamento com reposição hormonal por hipotireoidismo, sendo excluídos da amostra.

Aceitaram o convite para participar do grupo controle 72 indivíduos do sexo masculino, com idade acima de 40 anos.

Não foram incluídos no grupo quatro indivíduos por abuso de álcool e drogas (cocaína e derivados), quatro por exposição ocupacional a pesticidas e metais, dois por uso de hormônio tireoidiano, e sete interromperam a participação na pesquisa antes de concluir os exames.

5.6 Avaliação dos participantes

A avaliação dos indivíduos incluídos no estudo foi realizada por um médico do trabalho, sendo aplicado um questionário para investigação de sintomas e sinais sugestivos de intoxicação crônica, classicamente descritos na literatura (Langford e Ferner, 1999; Tirado et al., 2000; WHO, 2003; Faria, 2003; Clarkson e Magos, 2006; Park, 2012). Os sintomas referidos pelos participantes foram registrados sem a distinção

da manifestação atual ou pregressa, para identificar a presença de possíveis efeitos tóxicos do Hg, durante a exposição, ou após cessar a atividade laboral.

Foi pesquisada a presença de: tristeza, fadiga, alteração da escrita e do equilíbrio, alucinações, irritabilidade, cefaleia, dificuldade de concentração, alterações de memória, insônia, mudança de comportamento, nervosismo, parestesias, tremores, tontura e desmaios.

Além desses sintomas, foram incluídas as alterações orais que compõem a tríade do mercurialismo, a saber: sangramento de gengiva, perda de dentes e alteração da saliva.

O exame físico foi executado pelo mesmo médico, para avaliação da cavidade oral, contagem do número de dentes com preenchimentos de amálgama, palpação da tireoide, aplicação do teste de prono-supinação alternada (para avaliar a presença de disdiadococinesia), teste do indicador-nariz (para avaliar dismetria), identificação de tremores; teste de Romberg e avaliação de força muscular.

Os antecedentes de etilismo foram avaliados de acordo com as três primeiras questões do “Teste de Identificação de Desordens Devido ao Uso de Álcool” (Babor et al., 2001).

O questionário de pesquisa incluiu, além dos sintomas, a coleta dos dados sociodemográficos, bem como as descrições relatadas pelos trabalhadores sobre os riscos ocupacionais. Os dados foram armazenados em planilha de dados da Microsoft Excel (1997 – 2003) para facilitar a análise estatística.

5.7 Variáveis do estudo

- Sociodemográficas:

- Classificação da Atividade Econômica onde exerciam a ocupação: agrupada segundo os critérios do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, compreendendo as Seções de A até U. As indústrias de transformação foram categorizadas por seus respectivos ramos de produção, para identificação de possíveis fontes de exposição ao risco ocupacional.

- Situação ocupacional dos participantes: compreendendo as seguintes categorias: empregado, desempregado, aposentado, afastado do trabalho (por doenças ou acidentes).

- Escolaridade classificada em ensino fundamental, que compreende a educação básica do primeiro ao nono ano; o ensino médio, abrangendo o período do primeiro ao terceiro ano, após o ciclo fundamental; e o ensino superior, incluindo todos os anos de estudo acima do ensino médio.

- Idade: em anos

- Faixa etária: 40 a 49; 50 a 59 e 60 anos ou mais.

- Medidas ponderais:

- Peso: aferido em balança mecânica, marca Filizola, calibrada, com capacidade mínima e máxima, respectivamente, de 2,5 Kg e 150 Kg, escala em 0,1Kg.

- Altura: aferida em metros, por estadiômetro acoplado à balança, graduado em centímetros. Os participantes retiraram os calçados para aferição da medida.

- Índice de massa corporal (IMC): calculado pela relação entre o peso e a altura elevada ao quadrado, expresso em Kg/m^2 .

- Duração da atividade laboral: contabilizado o período da atividade ocupacional, inicial e final, registrado na carteira de trabalho.
- Tempo de afastamento da exposição: contado a partir do encerramento da atividade até o ano de ingresso no estudo.
- Análises toxicológicas
 - Concentrações de Hg urinário durante o período de exposição laboral: obtido nos registros do prontuário médico do SSO. Os valores de Hg apresentados em $\mu\text{g}/\text{g}$ de creatinina foram convertidos para $\mu\text{g}/\text{L}$, considerando que a correção de valores pela creatinina passou a ser realizada após a determinação legal de 1994 e diversos exames foram realizados antes deste período.
 - Concentrações de Hg urinário após cessar a exposição laboral e dos não expostos: obtidas por meio da coleta de 20 ml de urina, em frasco de polietileno, no período da manhã. A metodologia de análise utilizada foi a espectrofotometria de absorção atômica. O limite de detecção do método é de 0,4589 $\mu\text{g}/\text{L}$, o limite de quantificação adotado de 1,0 $\mu\text{g}/\text{L}$, a precisão intra-ensaio $\text{CV} = 3,77\%$ (5,0 $\mu\text{g}/\text{L}$); 3,31% (35 $\mu\text{g}/\text{L}$) e 1,10% (70,0 $\mu\text{g}/\text{L}$) e a precisão interensaio $\text{CV} = 6,82\%$ (5,0 $\mu\text{g}/\text{L}$); 5,21% (40 $\mu\text{g}/\text{L}$) e CV médio = 5,49%. A exatidão com Z score máximo = -1,7252; Z score mínimo = 0,0395; Z score médio = 0,9020. São considerados como valores de referência para população não exposta até 5 $\mu\text{g}/\text{g}$ de creatinina, ou até 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Norma Regulamentadora N.º 07, 1994). O índice biológico máximo permitido é de 35 $\mu\text{g}/\text{g}$ de creatinina. Este índice é estabelecido

como limite legal e corresponde ao valor máximo do indicador biológico de exposição.

Quando os valores ultrapassam este limite, o trabalhador deve ser afastado da exposição. Até 1994 este limite correspondia a 50 µg/L.

- Avaliações hormonais tireoidianas

Obtidas amostras de sangue por punção venosa cubital, no período das 7:00 às 9:00 horas, para análise das seguintes concentrações hormonais.

-TSH: eletroquimioluminométrico. O intervalo de referência é de 0,27 a 4,20 µIU/ml;

-T4L: por eletroquímioimunoensaio CL. O intervalo de referência é de 0,93 a 1,70 ng/dl;

-T3: por eletroquímioimunoensaio CL. O intervalo de referência é de 80 a 200 ng/dl;

-T3L: por imunoensaio competitivo quimioluminescente. O intervalo de referência é de 0,24 a 0,37 ng/dL;

-T3R: por Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem. O intervalo de referência é de 8 a 25 ng/dl.

- Avaliação de autoimunidade tireoidiana

-Anticorpo ATPO: por Imunoquimioluminométrico DX. O valor de referência é menor que 4 IU/ml;

-Anticorpo ATG: por Imunoquimioluminométrico DX. O valor de referência é menor que 9 IU/ml

- Concentrações de Selênio no sangue: analisado por método Espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite e correção

Zeeman. O valor de referência é de 46 a 143 $\mu\text{g/L}$ e o limite de quantificação é 30 $\mu\text{g/L}$.

- Concentrações de Iodo na urina: avaliada em 5 ml de amostra isolada de urina, analisadas pelo método de detecção indireta pela reação de Sandell-Kolthoff.

Os intervalos de referência são: suficiência - 100 a 299 $\mu\text{g/L}$; deficiência grave - inferior a 25 $\mu\text{g/L}$; deficiência moderada - na faixa entre 25 e 49 $\mu\text{g/L}$; deficiência leve -entre 50 e 99 $\mu\text{g/L}$ e excessivo - acima de 300 $\mu\text{g/L}$.

Os coeficientes de variação dos ensaios hormonais, selênio (no sangue) e iodo urinário são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1- Coeficientes de variação dos ensaios hormonais, selênio e iodo

Exame	CV Intra-ensaio (%)	CV Interensaio (%)	Nível
T3 reverso (ng/dl)	6,1	0	12,5
	4,9	1,2	23,2
	4,2	0	45,2
T3 livre (ng/dl)	6,6	8,0	0,14
	2,6	5,1	0,26
	5,1	1,3	0,96
T4 livre (ng/dl)	2,8	2,7	...
TSH ($\mu\text{UI/ml}$)	6,4	7,5	...
AC ATPO (IU/ml)	5,7	5,1	...
AC ATG (IU/ml)	7,6	16,9	...
Selênio ($\mu\text{g/L}$)	3,4	6,7	61
Iodo ($\mu\text{g/L}$)	<5	<10	...

Para confirmação de resultados que não estavam dentro do intervalo de normalidade, as análises das concentrações hormonais e anticorpos foram repetidas, por meio da coleta de novas amostras.

- Avaliação do parênquima tireoidiano por ultrassonografia com duplex Doppler colorido

Os exames foram realizados no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas, utilizando os equipamentos PHILIPS IU 22, TOSHIBA APLIO 500 e GENERAL ELETRIC EQ9, com transdutor linear de alta frequência (7 a 15 MHz). Estes transdutores possibilitam a obtenção de alta definição das imagens, com profundidade de até 5 cm do parênquima e resolução espacial de imagem de 0,5 a 1,0 mm (Solbiati, et al. 2012).

Todos os exames foram realizados e analisados pelo mesmo radiologista, com expertise na área, e sem o conhecimento prévio se o participante pertencia ao grupo exposto ao Hg, ou ao grupo controle.

Os indivíduos permaneceram em decúbito dorsal durante o exame, com hiperextensão da coluna cervical, utilizando um coxim sob os ombros para maior exposição da tireoide.

O aparelho no modo B (brilho) permite avaliar de forma precisa as dimensões e contornos da glândula, a ecogenicidade e textura do parênquima, bem como identificar a presença de lesões focais (Solbiati et al., 2012). O cálculo do volume tireoidiano é baseado na fórmula elipsoide com um fator de correção: comprimento x altura x espessura x 0,529, para cada lobo (Solbiati et al., 2012).

As variáveis do estudo, referentes aos aspectos do parênquima tireoidiano, são: localização; dimensões; contorno da glândula; ecogenicidade; ecotextura; vascularização e medida do pico de velocidade sistólica das artérias tireoidianas, conforme mostra o Quadro 02.

Quadro 2- Aspectos do parênquima da tireoide avaliados na ultrassonografia

Aspectos	Classificação
Localização	Tópica
	Ectópica
Dimensão (volume total)	Normal: 6 a 15 cm ³
	Aumentada: acima de 15 cm ³
	Reduzida: abaixo de 6 cm ³
Contorno	Regular
	Irregular
Ecogenicidade	Normal
	Hipoecogênica
	Hiperecogênica
Ecotextura	Homogênea
	Finamente heterogênea
	Heterogênea
Vascularização	Normal
	Aumentada
	Reduzida
Medida do pico de velocidade sistólica	Normal: 13,8 a 29,2 cm/s

A ecogenicidade da glândula é analisada comparando-a com os tecidos musculares e com a glândula submandibular, sendo o padrão normal da glândula ligeiramente mais denso que as estruturas adjacentes (Höfling et al., 2008).

A ecotextura foi classificada de acordo com o aspecto homogêneo (normal), heterogêneo e finamente heterogêneo. Estes padrões são observados em razão da presença de múltiplas e diminutas áreas amorfas, ou arredondadas, que geralmente ocorrem em processos inflamatórios (Solbiati et al, 2012).

Após o estudo no modo B, foi realizado mapeamento Doppler colorido para avaliar a vascularização do parênquima. A análise é subjetiva, sendo considerada normal, quando está mais limitada aos pontos das artérias principais. Ela é considerada como aumentada, quando assume uma distribuição mais difusa, com acentuação dos vasos, refletindo um acometimento inflamatório, ou hiperplasia do parênquima (Höfling, 2012). A velocidade de pico sistólica é medida pela artéria tireoidiana inferior do lobo direito e esquerdo. Os picos de velocidades sistólicas considerados como referência neste estudo estão entre 13,8 e 29,2 cm/s.

As características dos nódulos observadas no estudo são:

- Dimensões nos três eixos: longitudinal, transversal e anteroposterior, sendo considerado para fins de análise estatística o maior eixo;
- Volume em cm³;
- Localização dividida em lobo direito, lobo esquerdo e istmo. Os lobos foram subdivididos em: terço superior, terço médio e terço inferior;
- Tipo: sólido, misto e cístico
- Ecogenicidade: os padrões hipoecogênico, isoecogênico e hiperecogênico. Segundo Solbiati et al (2012), os padrões encontrados na

maioria dos nódulos hiperplásicos e adenomatosos são isoecogênicos e hiperecogênicos, enquanto os nódulos malignos são mais hipoeecogênicos;

- Contorno: regular, ou irregular;
- Presença do halo;
- Calcificações: ausentes, microcalcificações - aparecendo como finos focos hiperecóticos, as calcificações grosseiras (comumente observadas em processos degenerativos), e periféricas (em “cascas de ovo”);
- Padrão de vascularização observado no Doppler: adotada a Classificação de Chammas et al. (2005), agrupado em: I – fluxo ausente; II – fluxo exclusivamente periférico; III – fluxo periférico igual ou maior que o central, IV – fluxo central maior que o periférico; V - exclusivamente central;
- Linfonodos: aspecto habitual; suspeitos- quando aparecem aumentados e localizados do mesmo lado do nódulo tireoidiano, podendo apresentar microcalcificações no seu interior, e reacional;
- Índice de resistividade (Chammas et al., 2005): obtido pela média de três medições, o cálculo é obtido por:

$$\frac{(\text{pico de velocidade sistólica} - \text{velocidade diastólica final})}{\text{pico de velocidade sistólica}}$$

As características ecográficas, incluídas no estudo como suspeitas de malignidade dos nódulos, foram as descritas por Haugen et al. (2016): presença de microcalcificações; padrão sólido; aspecto hipoeecogênico; bordas irregulares; invasão de tecidos perinodular, ausência de halo hipoeecótico; conformação mais alta que larga. São consideradas suspeitas de malignidade as características dos

linfonodos: presença de microcalcificações, aspecto cístico, vascularização periférica, hiperecogenicidade.

A classificação utilizada neste estudo buscou identificar se estas características estavam presentes, combinando-as aos padrões de vascularização e índice de resistividade descritos por Chammas et al. (2005), para aceção da suspeita de risco de malignidade.

O Quadro 03, mostra os padrões da ultrassonografia considerados como suspeitos do risco de malignidade para nódulos tireoidianos, segundo critérios de Chammas et al. (2005).

Quadro 3- Classificação do risco de malignidade dos nódulos tireoidianos, segundo índice de resistividade e padrão de vascularização

Ecogenicidade	Padrão de vascularização	Dimensões do nódulo (transversal) até 1,0 cm	Dimensões do nódulo (transversal) 1,1 cm a 2,0 cm	Dimensões do nódulo (transversal) 2,1 cm a 3,0 cm
Hipoecogênico	IV ou V	Qualquer IR	Qualquer IR	Qualquer IR ou padrão de vascularização
Hipoecogênico	II ou III	IR > 0,68	Qualquer IR	Qualquer IR ou padrão de vascularização
Não hipoecogênico	IV ou V	IR > 0,82	IR > 0,50	IR > 0,4
Não hipoecogênico	II ou III	Baixo risco	IR > 0,65	IR > 0,78

FONTE: Chammas et al., 2005.

IR: índice de resistividade

Padrão de Vascularização: **I-** ausência de sinal de fluxo de sangue; **II-** sinal de fluxo exclusivamente periférico; **III-** sinal de fluxo periférico maior que o central; **IV-** sinal de fluxo central maior que periférico; **V-** sinal de fluxo exclusivamente central.

Além desta classificação, os nódulos também foram categorizados pelo sistema proposto pelo Colégio Americano de Radiologia, em 2017, conforme mostra o Quadro 4.

Quadro 4- Sistema de classificação de nódulos tireoidianos, segundo o Comitê de Radiologia American College of Radiology (TI-RADS)

Composição	Ecogenicidade	Forma	Bordas	Focos ecogênicos
0 pontos	0 pontos	0 pontos	0 pontos	0 pontos
Cístico ou predominante cístico	Anecoico	Mais largo que alto	Lisa	Ausentes, ou na forma de cauda de cometa
0 pontos	1 ponto	3 pontos	0 pontos	1 ponto
Espongiforme	Hiperecogênico ou Isoecogênico	Mais alto que largo	Bem definidas	Microcalcificações
1 ponto	2 pontos		2 pontos	2 pontos
Misto (sólido e cístico)	Hipoecogênico		Irregulares ou lobuladas	Calcificações perinodulares
2 pontos	3 pontos		3 pontos	3 pontos
Sólido ou predominante sólido	Muito hipoecogênico		Extensão extra tireoidiana	Microcalcificações

FONTE: Tessler et al. (2017)

O sistema o TI-RADS (Thyroid Imaging Reporting and Data System).

atribui uma escala de pontos de acordo com as características dos nódulos observadas no ultrassom, para classificação de risco

A somatória dos pontos para classificação do risco no sistema TI-RADS (tradução nossa) é:

- 0 pontos: Benigno
- 2 pontos: Não suspeito
- 3 pontos: Levemente suspeito
- 4 a 6 pontos: Moderadamente suspeito
- 7 ou mais pontos: Altamente suspeito

Todos os nódulos com características suspeitas de malignidade, segundo os critérios descritos anteriormente, foram submetidos à punção aspirativa por agulha fina (PAAF), guiada por ultrassom, para exame citológico da lesão.

A PAAF é um método de elevada precisão para diferenciar lesões benignas e malignas, seguro, de custo relativamente baixo, e pode facilitar a tomada de decisão quanto à indicação de cirurgia (Solbiati et al., 2012).

O exame citológico do material aspirado do nódulo foi realizado pela Divisão de Anatomia Patológica do HC-FMUSP, seguindo a Classificação do sistema de Bethesda: Classe I- Amostra insatisfatória; Classe II- Nódulo benigno; Classe III- Atipia de significado indeterminado ou lesão folicular de significado indeterminado; Classe IV- Neoplasia folicular ou suspeita para neoplasia folicular; Classe V- Lesão suspeita de malignidade; Classe VI- Nódulo Maligno (Cibas e Ali, 2009).

5.8 Análises estatísticas

Realizada análise inicial dos dados por meio da estatística descritiva.

Posteriormente, para as variáveis qualitativas, foram utilizados os testes de Qui-quadrado de Person, com correção de continuidade para tabelas 2 x 2, ou teste Exato de Fisher. Para as variáveis quantitativas, foi avaliada a aderência à curva normal por meio

dos testes de Kolmogorov-Smirnov. Tendo a aderência confirmada, a comparação de médias das variáveis em grupos expostos e não expostos foi realizada por meio do Teste t, e no caso das variáveis que não seguiram a distribuição Gaussiana, foi utilizado o Teste U de Mann-Whitney.

Os modelos de regressão logística univariada e múltipla foram utilizados para a quantificação do risco de alteração dos hormônios tireoidianos.

Com a finalidade de avaliar possíveis os preditores da elevação de TSH, as variáveis independentes testadas no modelo foram: a condição de exposição ao Hg (sim ou não), as concentrações de Hg urinário agrupadas ($\leq 10 \mu\text{g/L}$ ou $> 10 \mu\text{g/L}$), a duração do trabalho (agrupado em quartis); o número de dentes com preenchimento de amálgama (agrupado em quartis); as concentrações de iodo e selênio (agrupadas em quartis); os marcadores de autoimunidade (anticorpos ATPO e ATG), os valores do IMC agrupados ($\leq 25 \text{ Kg/m}^2$ ou $> 25 \text{ Kg/m}^2$). Foram testadas no modelo as variáveis de confusão: hábito de tabagismo (presente ou não); consumo de álcool (agrupado em doses por semana) e a faixa etária. Cada variável foi adicionada ao modelo separadamente, para averiguar se havia significância estatística como preditor ($p < 0,05$). Encontrada significância estatística ($p < 0,05$), a variável foi adicionada ao modelo múltiplo.

O modelo de regressão logística também foi aplicado para avaliar os possíveis preditores para apresentar concentrações do T3R acima do terceiro quartil (21 ng/dL). Foram incluídas como variáveis independentes: a condição de exposição ao Hg (sim ou não), as concentrações de Hg urinário ($\leq 10 \mu\text{g/L}$ ou $> 10 \mu\text{g/L}$), a duração da atividade (agrupada em quartis); o número de dentes com preenchimento de amálgama; as concentrações de iodo e selênio (agrupadas em quartis) e os marcadores de

autoimunidade (anticorpos ATPO e ATG). As variáveis de confusão incluídas no modelo foram: o hábito de tabagismo (presente ou não); o consumo de álcool (agrupado em doses por semana) e a faixa etária. Cada variável foi adicionada ao modelo separadamente, para averiguar se havia significância estatística como preditor ($p < 0,05$). Encontrada significância estatística ($p < 0,05$), a variável foi adicionada ao modelo múltiplo.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do pacote estatístico SPSS, versão 23 e a elaboração dos gráficos com o emprego do pacote R (Oksanen et al.; 2011).

5.8 Procedimentos e aspectos éticos

Todos os participantes ingressaram no estudo de forma voluntária, bem como foram informados sobre os diversos procedimentos da pesquisa.

Após obtenção da anuência do termo de consentimento livre e esclarecido, atendendo à Resolução CNS 196/96, os participantes iniciaram os procedimentos do estudo.

O projeto da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HC-FMUSP (Inscrição N° 12.438).

Os participantes do grupo exposto, ou controles, que apresentaram exames com resultados alterados foram encaminhados para seguimento médico, conforme indicado no projeto da pesquisa.

5.9 Financiamento da pesquisa

O financiamento da pesquisa foi obtido por meio da aplicação dos recursos financeiros, provenientes de acordos trabalhistas do Ministério Público, em um Fundo de Pesquisa do Hospital das Clínicas – FMUSP.

6. RESULTADOS

6 RESULTADOS

6.1 Amostra do estudo

Conforme o cálculo da amostra, foram incluídos no estudo 55 indivíduos expostos ao Hg no trabalho. O grupo controle foi constituído por 55 indivíduos, sem antecedentes de exposição ocupacional a metais, pareados aos expostos por idade.

Todos os participantes ingressaram no estudo de forma voluntária e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Antes de iniciar as inferências estatísticas foi verificado se os dados da amostra seguiam a distribuição Gaussiana, por meio do teste de Kolmogorov e Smirnov, sendo adotado o nível de significância de 5% para os testes. Quando a distribuição não mostrava adesão à normalidade, foram utilizados testes estatísticos não paramétricos.

6.2 Características sociodemográficas dos participantes do estudo

6.2.1 Atividades ocupacionais

Todos os indivíduos do grupo exposto exerceram suas atividades laborais em indústrias de transformação, que aplicavam o Hg no processo produtivo. A fabricação de lâmpadas foi o ramo produtivo com maior número de indivíduos, contando com 53 operadores (96,4%). Os demais setores foram indústria de cloro e álcalis e fabricação de termômetros, com dois operadores (3,6%), conforme mostra a Tabela 1.

No grupo controle predominou a atividade laboral no setor de Saúde Humana (34,5 %), seguida pelo Transporte Rodoviário (20%) e Administrativo (16,4%). A proporção de trabalhadores no setor industrial foi reduzida, correspondendo a 12,7%.

Tabela 1 - Distribuição dos participantes da pesquisa (número e proporção), segundo a classificação de atividade econômica¹ e grupos de exposição - 2016 a 2017

Atividade Econômica	Expostos ao Hg		Não expostos	
	N	%	N	%
Indústria de lâmpadas	53	96,3	-	-
Indústrias metalúrgicas	-	-	6	10,9
Indústria de cloro e álcalis	1	1,8	-	-
Indústria de termômetros	1	1,8	-	-
Indústria de tintas	-	-	1	1,8
Saúde Humana	-	-	19	34,5
Transporte rodoviário	-	-	11	20,0
Administrativa e financeira	-	-	9	16,4
Outros setores²	-	-	9	16,4
Total	55	100	55	100

1 Classificação do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

2 Outros setores: comércio; imobiliárias, artes e construção civil.

6.2.2 Riscos Ocupacionais

A descrição da exposição a riscos químicos deste estudo foi adstrita ao Hg e as operações que envolviam o contato direto com o metal. São destacadas, a seguir, algumas atividades identificadas por mecânicos de manutenção, operadores de máquina e líderes de produção, como aquelas de maior exposição.

Conforme descrição dos mecânicos, a exposição era mais frequente quando realizavam o ajuste dos dosadores das máquinas de bombear Hg, para não injetar quantidades excessivas nas lâmpadas. A tarefa consistia em desmontar os dosadores realizar testes para identificar falhas, realizar os reparos, e depois, os reabastecer com Hg. Nestas etapas, entravam em contato com resíduos do metal presente nos componentes, ou no piso embaixo das máquinas. Alguns trabalhadores relataram que abriam até três dosadoras simultaneamente no mesmo setor. As máquinas eram muito quentes, favorecendo a evaporação do Hg. Durante a execução de reparos, o metal extravasava e atingia a pele. O acesso aos componentes internos das máquinas maiores era difícil, sendo necessário entrar em espaços restritos e próximos do resíduo metálico. Quando entravam embaixo das máquinas, para fazer o reparo, notavam a presença de Hg derramado. Percebiam também a presença de resíduos de metal no cabelo e na pele quando concluíam o conserto. As máquinas obsoletas vazavam muito, e no início da produção, a quantidade de Hg colocada nas lâmpadas era maior do que a utilizada atualmente. Quando ocorriam falhas no processo produtivo, era necessário agir rápido para não ter muitas perdas de lâmpadas e vazamentos de Hg. Referiram também contato com o Hg em operações de abastecimento dos reservatórios de máquinas.

Os operadores de máquinas relataram que o carrossel da máquina comportava centenas de lâmpadas, e quando ocorriam falhas, quebravam muitas lâmpadas extravasando o Hg. Com a finalidade de facilitar a remoção dos estilhaços, alguns trabalhadores utilizavam o jato de ar comprimido, o que pode contribuir para a dispersão do Hg. Outra atividade com risco de exposição era a limpeza dos êmbolos dos dosadores, sendo necessária a remoção do Hg, e posteriormente a sua reposição.

Os operadores indicaram o rompimento frequente de lâmpadas como principal situação de exposição. Citaram que, no final da jornada, notavam a presença de metal na pele, no uniforme e no piso. As máquinas seladoras utilizam o calor de maçaricos para junção dos componentes, tornando o local muito quente e favorecendo a evaporação do Hg.

A recuperação de lâmpadas com defeitos envolvia a abertura do bulbo contendo o Hg, para reciclá-lo, constituindo uma fonte importante de exposição.

Os operadores não sabiam informar os resultados das medições ambientais de Hg, entretanto, relataram que algumas vezes, os técnicos solicitavam que parassem a produção, pois havia ultrapassado o limite máximo permitido. Outros relataram que a empresa não realizava análise das concentrações de Hg no ambiente de trabalho.

Nas indústrias de produção de cloro-álcalis, as atividades apontadas foram o abastecimento das células eletrolíticas com Hg, as operações de regulagem da salmoura e a limpeza de filtros. As atividades em laboratório, também foram citadas, mas, na percepção dos trabalhadores, o abastecimento gerava exposições mais intensas, considerando a grande quantidade de Hg necessária para operações das células.

A maioria dos operadores informou que antes da década de 90, os uniformes eram lavados em suas residências.

A exposição a níveis elevados de pressão sonora (ruído), calor, risco ergonômico e de acidentes no trabalho, foi relatada com maior frequência no grupo exposto ao Hg, conforme mostra a Figura 1.

Todos os expostos ao Hg relataram a presença do risco de acidentes no ambiente de trabalho. A exposição concomitante ao calor foi mencionada por quase todos os expostos ao Hg (98,2 %).

Figura 1 – Representação gráfica da distribuição dos participantes da pesquisa, segundo risco ocupacional e grupos de exposição - 2016 a 2017

A frequência de utilização dos equipamentos de proteção individual (EPI) para exposições a riscos ocupacionais é apresentada na Tabela 2.

O risco de acidentes no trabalho foi relatado por todos os expostos ao Hg e o uso de óculos de segurança foi referido por quase todos os indivíduos desse grupo (96,4%). Entretanto, a proporção de utilização de máscara de proteção respiratória foi menor, sendo referida por 38 % dos trabalhadores expostos ao risco.

Tabela 2 - Distribuição dos participantes (número e proporção), segundo o uso de equipamentos de proteção individual e grupos de exposição - 2016 a 2017

EPI	Utilização	Expostos ao Hg		Não expostos	
		N	%	N	%
Óculos de segurança	Sim	53	96,4	14	73,7
	Não	2	3,6	5	26,3
Protetor auricular	Sim	51	96,2	13	23,6
	Não	2	3,8	3	5,5
	Não se aplica	2	3,6	39	70,9
Máscara de proteção respiratória	Sim	21	38,2	12	21,8
	Não	34	61,8	3	20,0
	Não se aplica	-	-	40	72,7

EPI: equipamento de proteção individual

6.2.3 Situação ocupacional

A proporção de trabalhadores inativos, por aposentadoria, foi maior entre os expostos ao Hg, quando comparados ao grupo controle (60% versus 10,9%), conforme mostra a Figura 2. O valor do teste Qui-quadrado de Pearson mostrou associação estatisticamente significativa entre a exposição ao Hg e estar inativo no mercado de trabalho ($\chi^2 = 28,5$; $p = 0,000$).

As proporções de desemprego e afastamento temporário do trabalho foram similares entre os grupos.

Figura 2 – Representação gráfica da distribuição dos participantes do estudo, segundo a condição ocupacional e grupos de exposição - 2016 a 2017

6.2.4 Escolaridade

A escolaridade predominante, dos expostos ao Hg e do grupo controle, foi até o ensino Fundamental (42,7%), que abrange o intervalo de um a nove anos de estudos, conforme mostra a Tabela 3.

Os controles tiveram maior proporção de indivíduos com ensino superior (25,5% versus 9,1%), entretanto, não houve associação estatisticamente significativa entre as categorias de exposição e o grau de escolaridade, conforme resultados do teste Qui-quadrado de Pearson ($\chi^2 = 5,159$ e $p = 0,076$).

Tabela 3 - Grau de escolaridade dos participantes do estudo, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017

Escolaridade	Expostos ao Hg		Não expostos		Total		Valor de p ¹
	N	%	N	%	N	%	
Fundamental	26	47,3	21	38,2	47	42,7	0,076
Médio	24	43,6	20	36,4	44	40,0	
Superior	5	9,1	14	25,5	19	17,3	
Total	55	100	55	100	110	100	

1- Teste do Qui-quadrado de Pearson

6.3 Características de idade e medidas ponderais dos indivíduos

A idade dos expostos ao Hg variou de 41 a 68 anos e do grupo controle de 41 a 70 anos. De acordo com os resultados, mostrados na Tabela 4, não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade dos grupos ($p = 0,158$).

Não se observou diferença, estatisticamente significativa, entre os expostos ao Hg e o grupo controle, com relação às médias de peso e índice de massa corporal (IMC), conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 - Características de idade, medidas ponderais e índice de massa corporal dos participantes, segundo grupos de exposição - 2016 - 2017

Características	Média ($\pm$ DP)		Valor de p
	Expostos ao Hg	Não expostos	
Idade (anos)	55,22 ($\pm 6,61$)	53,43 ($\pm 6,80$)	0,158 ^a
Peso (Kg)	83,74 ($\pm 15,78$)	80,50 ($\pm 15,65$)	0,281 ^a
Altura (m)	1,70 ($\pm 0,07$)	1,70 ($\pm 0,07$)	0,726 ^b
IMC (kg/m²)	29,04 ($\pm 4,61$)	27,80 ($\pm 4,37$)	0,153 ^a

DP: desvio padrão

IMC: índice de massa corporal

a: Test t

b: Teste U de Mann Whitney

As médias do IMC, dos indivíduos expostos (29,04 kg/m²) e dos controles (27,8 kg/m²), estavam acima do valor de referência. Considerando parâmetros do National Health and Nutrition Examination Survey II, o valor ideal está entre 18,5 e 24,9 Kg/m².

A proporção de indivíduos com IMC igual ou superior de 30 Kg/m², considerado indicador de obesidade, foi igual entre os grupos, correspondendo a 34,5% (N = 19).

6.4 Características do consumo de tabaco, álcool e drogas

O hábito de tabagismo atual foi igual entre os grupos, sendo referido por nove indivíduos (16,4%). O hábito pregresso foi maior no grupo exposto, referido por 22 indivíduos (40%) e no grupo controle por 11 pessoas (20%).

Considerando o tabagismo atual e pregresso, não houve associação estatisticamente significativa entre o hábito de fumar e a exposição ao Hg, conforme resultado do teste de Qui-quadrado de Pearson ($\chi^2 = 1,407$; $p = 0,235$).

A média do tempo de tabagismo em não expostos foi de 8,7 anos (DP: $\pm 13,8$ anos) e, dos expostos, 10,9 anos (DP: $\pm 14,8$ anos). Conforme resultados do teste U de Mann Whitney, não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de tempo de tabagismo dos grupos ($p = 0,136$).

O consumo diário de tabaco foi maior no grupo exposto, atingindo a média de 8,98 cigarros (DP: $\pm 11,32$ cigarros), e dos não expostos foi de 4,84 (DP: $\pm 8,42$ cigarros). O teste U de Mann Whitney mostrou diferença estatisticamente significativa entre as médias do consumo de cigarros dos grupos ($p = 0,003$).

A média do consumo de álcool, em número de doses por semana, foi de 4,50 (DP: $\pm 4,04$) em não expostos, e 4,63 (DP: $\pm 3,66$) em expostos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de consumo semanal de álcool entre os grupos exposto e não exposto ($p = 0,915$).

O consumo máximo de álcool, em ambos os grupos, foi de 15 doses por semana.

Indivíduos que relatam consumo semanal acima de 21 doses não foram incluídos no estudo.

O consumo pregresso de Cannabis Sativa foi referido por dois indivíduos expostos ao Hg e dois controles. Os participantes que referiram consumo de cocaína e seus derivados não foram incluídos no estudo.

6.5 Análise dos exames toxicológicos e período de exposição

6.5.1 Concentrações de Hg urinário em indivíduos expostos

No grupo exposto, 52 indivíduos dispunham dos resultados do exame toxicológico, realizados durante o período da atividade laboral. Contudo, não dispunham da série de resultados semestrais. Segundo a legislação do trabalho brasileira, este exame deve ser realizado semestralmente, durante o período de exposição ocupacional.

Conforme mostra a Tabela 5, durante a exposição laboral, a média das concentrações de Hg excedeu o limite de tolerância, que corresponde a 50 µg/L.

Tabela 5 - Comparação de médias, valor mínimo e máximo das concentrações de mercúrio urinário - 2016 a 2017

Mercúrio urinário (µg/L)	Durante a Exposição	Não expostos	Cessada a exposição
Média (±DP)	51,9 (±40,13)	1,8 (±1,62)	2,2 (±2,75)
IC 95%	40,9 - 63,0	1,3 - 2,2	1,4 - 2,9
Mínimo	2,0	0,11	0,22
Máximo	180,0	8,2	17,3

IC: intervalo de confiança, DP: desvio padrão

Após cessar a exposição, houve redução da média de Hg urinário, atingindo o valor de 2,2 µg/L (DP: ±2,75 µg/L).

Neste período, as concentrações de Hg urinário foram similares às aquelas observadas no grupo controle ($p = 0,822$).

A comparação dos quartis das concentrações Hg urinário, segundo o período de exposição, são apresentados na Figura 3.

Figura 3 - Representação gráfica da comparação de quartis de mercúrio urinário (µg/L) dos indivíduos expostos, não expostos e após cessar a exposição laboral - 2016 a 2017

Durante o período de exposição laboral, as concentrações de Hg urinário foram significativamente mais elevadas, quando comparadas ao grupo controle, ou após cessar a atividade laboral ($p < 0,01$), conforme mostra a Figura 3.

A maioria dos expostos (90,4%) apresentou valores de Hg acima do limite de referência estabelecido pela OMS para população ($10 \mu\text{g/L}$).

As médias mais elevadas de Hg urinário foram observadas nas atividades de líder de produção ($69,3 \mu\text{g/L}$), operador de máquina de bombear ($60,8 \mu\text{g/L}$) e mecânico de manutenção ($56,1 \mu\text{g/L}$), conforme mostra a Figura 4.

Figura 4- Representação gráfica das médias de concentração do mercúrio urinário ($\mu\text{g/L}$) dos indivíduos expostos, segundo a atividade laboral - 2016 a 2017

6.5.2. Duração da atividade laboral e período de afastamento da exposição

A média de duração da atividade laboral, com exposição ao Hg, foi de 14,51 anos (DP: $\pm 7,26$ anos; IC 95%: 12,55 a 16,47 anos), o menor período correspondeu a dois anos, e o maior atingiu 36 anos.

A média do tempo de afastamento da exposição foi de 14,2 anos (DP: $\pm 7,37$ anos; IC 95%: 12,2 a 16,2 anos).

6.6 Sintomas e sinais observados no exame clínico

Os sintomas referidos pelos participantes da pesquisa são apresentados na Tabela 6.

As alterações bucais como mudança da saliva, perda dentária e sangramento gengival foram mais frequentes em expostos. O teste de Qui-quadrado de Pearson mostrou associação estatisticamente significativa entre as alterações bucais e a exposição ao Hg ($p < 0,05$), conforme mostra a Tabela 6.

A perda dentária foi frequente em ambos os grupos, mas a proporção foi significativamente mais elevada em expostos ($p = 0,002$).

A proporção dos sintomas neuropsicológicos foi significativamente maior no grupo exposto ($p < 0,05$), conforme mostra a Tabela 6.

Todos os expostos referiram alteração de memória, e no grupo controle, este sintoma foi relatado por um quarto dos indivíduos.

A irritabilidade, ansiedade, insônia, dificuldade de concentração, tristeza e tremores foram referidos por mais de 70% dos indivíduos expostos.

Tabela 6 - Número e proporção de sintomas referidos pelos participantes da pesquisa, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017

Sintomas	Expostos ao Hg		Não expostos		χ^2	Valor de p
	N	%	N	%		
Alteração da saliva	33	60,0	6	10,9	26,9	0,000
Perda dentária	39	70,9	23	41,8	8,3	0,002
Sangramento gengival	36	65,5	9	16,4	25,4	0,000
Alteração de equilíbrio	26	47,3	5	9,1	18,0	0,000
Distúrbios de memória	55	100,0	14	25,5	-	-
Ansiedade	48	87,3	24	43,6	21,3	0,000
Cefaleia	38	69,1	17	30,9	14,5	0,000
Tristeza	40	72,7	9	16,4	33,1	0,000
Desmaio	12	21,8	3	5,5	-	0,024 ^a
Dificuldade de concentração	44	80,0	5	9,1	53,1	0,000
Irritabilidade	52	94,5	16	29,1	-	0,000 ^a
Mudança de comportamento	39	38,2	3	5,5	-	0,000 ^a
Insônia	50	90,9	18	32,7	37,0	0,000
Nervosismo	50	90,9	14	25,5	45,8	0,000
Parestesia	40	72,7	17	30,9	17,6	0,000
Tontura	37	67,3	10	18,2	25,1	0,000
Tremor	40	72,7	6	10,9	40,7	0,000
Fadiga	44	80,0	13	23,6	32,8	0,000

χ^2 : Qui-quadrado de Pearson com correção de continuidade de Yates

a: Teste exato de Fisher

No grupo controle, os sintomas mais frequentes foram: ansiedade, insônia, cefaleia, parestesias e irritabilidade, referidos por mais de 30 % dos indivíduos, de

acordo com os resultados da Tabela 6. Comparando os grupos, estas alterações foram, aproximadamente, duas vezes mais frequentes nos indivíduos expostos ao Hg.

O tremor de extremidades foi o sinal encontrado com maior frequência no exame físico em expostos. Em 39 indivíduos (70%) observou-se um tremor de intensidade leve à moderada, do tipo intencional. Entre os controles, 15 indivíduos apresentaram tremor (27,3%). O teste Qui-quadrado de Pearson mostrou associação estatisticamente significativa entre o tremor e a exposição ao Hg.

A alteração do teste indicador-nariz estava presente em 11 indivíduos expostos (20,4 %), e a presença de disdiadococinesia, em nove indivíduos (16,4%). No grupo controle, nenhum dos participantes apresentou alteração destes testes.

O teste de Romberg foi positivo em 32 expostos (58,2%) e oito controles (14,5%). O teste de Qui-quadrado de Pearson mostrou associação estatisticamente significativa entre o teste positivo e a exposição ao Hg ($p = 0,000$).

O bócio foi detectado no exame clínico de seis indivíduos expostos ao Hg (10,9%) e cinco do grupo controle (9%). Na ultrassonografia, o bócio foi identificado com maior frequência, inteirando 26 participantes.

Os coeficientes da correlação de Spearman entre os sintomas e as variáveis de exposição ao Hg são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Coeficientes de correlação de Spearman entre sintomas, categoria de exposição, duração do trabalho e concentrações de mercúrio urinário - 2016 a 2017

Variáveis	Exposição (sim ou não)	Duração do trabalho	Hg (µg/L)
Alteração de memória	,771**	,714**	,698**
Nervosismo	,663**	,609**	,633**
Dificuldade de concentração	,713**	,652**	,619**
Alteração da grafia	,689**	,649**	,599**
Mudança de comportamento	,674**	,543**	,562**
Tremor	,627**	,620**	,544**
Insônia	,599**	,612**	,515**
Fadiga	,564**	,527**	,471**
Ansiedade	,459**	,395**	,349**
Sangramento da gengiva	,499**	,431**	,395**
Perda dentária	,293**	,248**	,297**
Alteração da saliva	,513**	,476**	,341**

**A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral).

Os coeficientes de correlação de Spearman mostraram uma relação positiva, estatisticamente significativa ($p < 0,01$), entre os sintomas e as variáveis relativas à exposição ao Hg (categorias de exposição, duração do trabalho e concentrações de Hg urinário), de acordo com os resultados da Tabela 7. As concentrações de mercúrio estudadas na correlação de Spearman incluíram as análises realizadas durante o período de exposição laboral e as concentrações obtidas nos indivíduos do grupo controle.

6.7 Concentrações dos hormônios tireoidianos, selênio e iodo

6.7.1 Comparação das médias de concentrações hormonais, selênio e iodo

Na Tabela 8, são apresentadas as médias das concentrações de hormônios tireoidianos, selênio (no sangue) e iodo urinário dos indivíduos expostos ao Hg e do grupo controle.

Tabela 8- Comparação de médias, valores mínimo e máximo das concentrações hormonais, concentrações de selênio e iodo, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017

Concentrações	Média ($\pm$ DP) Mínimo e Máximo		Valor de p
	Expostos ao Hg	Não Expostos	
T3 (ng/dL)	122,27 ($\pm$ 18,53) 72 – 159	123,73 ($\pm$ 19,36) 86 – 188	0,688 ^a
T3 reverso (ng/dL)	19,45 ($\pm$ 4,59) 12,0 – 33	17,65 ($\pm$ 4,01) 9,0 – 26	0,066 ^b
T3 livre (ng/dL)	0,35 ($\pm$ 0,04) 0,25 – 0,44	0,36 ($\pm$ 0,04) 0,25 – 0,45	0,176 ^a
T4 livre (ng/dL)	1,18 ($\pm$ 0,20) 0,76 – 1,60	1,19 ($\pm$ 0,20) 0,82 – 1,75	0,695 ^a
T4L/T3L	3,33 ($\pm$ 0,66) 1,05 – 4,85	3,36 ($\pm$ 0,65) 2,20 – 5,35	0,791 ^a
TSH (μIU/mL)	3,31 ($\pm$ 2,31) 0,57 – 11,53	2,31 ($\pm$ 1,07) 0,94 – 5,55	0,030 ^b
Iodo (μg/L)	203,8 ($\pm$ 72,86) 33 – 315	199,8 ($\pm$ 81,77) 60 – 446	0,787 ^a
Selênio (μg/L)	77,38 ($\pm$ 19,83) 46 – 139	72,73 ($\pm$ 15,02) 33 – 109	0,447 ^b

a: Teste t

b: Teste U de Mann-Whitney

As médias das concentrações dos hormônios T3, T3L, T4L, do iodo (urinário) e o selênio, bem como a relação entre o T4L e T3L, não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$), de acordo com os resultados da Tabela 8.

Somente um indivíduo exposto ao Hg apresentou valores de T3 abaixo do limite de normalidade (80 ng/dL). Nenhum participante apresentou níveis elevados do hormônio.

As concentrações de T3L ultrapassaram o valor de normalidade (0,37 ng/dL) em 18 indivíduos do grupo controle (32,7%) e 11 dos expostos ao Hg (20%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, quanto à elevação das concentrações hormonais ($\chi^2 = 2,29$; $p=0,129$).

A proporção de alteração das concentrações de iodo urinários foi igual entre os grupos, correspondendo à 18%, considerando tanto a redução (abaixo de 99 $\mu\text{g/L}$), como o aumento (acima de 299 $\mu\text{g/L}$).

A comparação das médias das concentrações de T3R não mostrou diferença estatística significativa, entretanto, o valor de p foi fronteiro ($p = 0,060$), conforme mostra Tabela 8. Em quatro indivíduos expostos e um controle, as concentrações de T3R excederam o valor de normalidade (25 ng/dL).

A média das concentrações de TSH em expostos ao Hg foi mais elevada em relação ao grupo controle, com diferença estatisticamente significante ($p = 0,030$), conforme mostra a Tabela 8.

As concentrações de TSH excederam o limite de normalidade (4,20 $\mu\text{IU/ml}$) em 13 indivíduos do grupo exposto (27,3%) e em quatro participantes do grupo controle

(7,3%). O teste exato de Fisher mostrou uma associação estatisticamente significativa entre a elevação das concentrações de TSH e a exposição ao Hg ($p = 0,018$).

A comparação de quartis entre os grupos expostos e não expostos ao Hg é apresentada na Figura 5.

Figura 5 - Representação gráfica da comparação de quartis das concentrações de TSH, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017

A presença de anticorpos ATG foi observada em três expostos ao Hg e dois indivíduos do grupo controle. Os anticorpos ATPO foram positivos em seis indivíduos expostos ao Hg e dois controles. O resultado do teste Exato de Fisher não mostrou diferença significativa entre os grupos ($p = 0,271$).

6.7.2 Análise da correlação de Spearman

Os coeficientes da correlação de Spearman entre as concentrações dos hormônios tireoidianos e as variáveis: Hg urinário, duração do trabalho, iodo e selênio, são apresentados na Tabela 9.

As concentrações de Hg urinário incluídas na correlação de Spearman foram as dosagens obtidas durante o período de exposição laboral (N=108) em conjunto com a dos indivíduos do grupo controle.

Tabela 9 - Coeficientes da correlação de Spearman entre as concentrações de hormonais e as variáveis: mercúrio urinário, duração do trabalho, iodo e selênio - 2016 a 2017

Variáveis	T3 total	T3 Reverso	T3 Livre	T4 Livre	TSH
Duração do trabalho	-0,088	0,113	-0,145	-0,110	,219*
Hg urinário (µg/L)	0,000	,210*	-0,113	0,017	0,098
Selênio (µg/L)	-0,068	-0,051	-0,011	-0,016	-0,086
Iodo (µg/L)	-0,080	0,013	-,213*	-,204*	0,061

*A correlação é significativa no nível 0,05 (bilateral).

Os coeficientes de correlação mostraram uma relação positiva, estatisticamente significativa, entre as concentrações de TSH e a duração do trabalho ($p=0,022$), conforme mostra a Tabela 9. As variáveis: idade, IMC, tabagismo, consumo de álcool, número de dentes com preenchimento de amálgama, concentrações de iodo, mercúrio

urinário e selênio, não apresentaram coeficientes de correlação, estatisticamente significantes, com a concentração de TSH.

O iodo urinário apresentou uma correlação inversa com as concentrações de T3L e T4L ($p < 0,05$), conforme resultados da Tabela 9. Os marcadores de autoimunidade ATPO e ATG, bem como o consumo de álcool, número de dentes com preenchimento de amálgama e concentrações de selênio, não mostraram uma correlação estatisticamente significativa com as concentrações hormonais.

A representação gráfica da correlação é apresentada na Figura 6.

Figura 6 – Representação gráfica do diagrama de dispersão, sobre a correlação entre as concentrações de T3Reverso e o do Hg urinário - 2016 a 2017

As concentrações de T3 Reverso mostraram uma correlação de Spearman positiva, estatisticamente significativa, com o Hg urinário ($p < 0,05$).

A duração do trabalho mostrou uma correlação positiva com as concentrações de Hg urinário ($\rho = 0,776$; $p = 0,000$), conforme mostra a Figura 7.

Figura 7- Representação gráfica do diagrama de dispersão, sobre a correlação entre a duração do trabalho e as concentrações de mercúrio urinário ($\mu\text{g/L}$) - 2016 a 2017

6.7.3 Análise de regressão logística binária

Os modelos de regressão logística, empregados para identificar a razão de chances (OR) de elevação do TSH, são mostrados na Tabela 10.

As variáveis faixa etária, IMC, tabagismo, consumo de álcool, concentrações de iodo e selênio não mostraram uma razão de chances (OR), estatisticamente significativa, para elevação do TSH na análise de regressão logística univariada. Permaneceram no modelo as variáveis: anticorpos ATPO e ATG, tempo de atividade laboral, concentrações de Hg urinário (agrupadas) e exposição.

No primeiro modelo, empregou-se como variável independente o Hg urinário, agrupado em categorias (≤ 10 ou > 10 $\mu\text{g/L}$), e no segundo, a situação de exposição ao Hg (sim ou não).

Tabela 10 - Razão de chances (OR) para elevação das concentrações de TSH, em relação à concentração de mercúrio urinário, exposição e marcadores de autoimunidade - 2016 a 2017

Modelo	Variáveis	OR	IC 95%		Valor de p
			Inferior	Superior	
1	Hg urinário ^a	4,55	1,29	16,08	0,019
	AC ATG	8,06	0,81	80,40	0,075
	AC ATPO	1,65	0,21	12,85	0,634
	Constante	0,06	...	...	0,000
2	Exposição ao Hg	4,77	1,17	19,48	0,030
	Tempo de atividade	0,62	0,16	2,39	0,492
	AC ATG	6,11	0,66	56,93	0,112
	AC ATPO	3,34	0,56	19,93	0,186
	Constante	0,06	...	...	0,000

a: Hg urinário agrupado (≤ 10 ou > 10 $\mu\text{g/L}$)

IC: Intervalo de confiança 95%

O modelo de regressão logística mostrou que a exposição ao Hg apresentou um valor preditivo, estatisticamente significativo, para elevação de TSH (OR = 4,76; IC 95% 1,17 a 19,48; $p = 0,030$). O valor do R^2 de Nagelkerke foi 0,17. A concentração de Hg urinário também mostrou o valor de OR estatisticamente significativo ($p=0,019$)

para elevação do TSH, conforme mostra a Tabela 10. Os anticorpos (ATPO e ATG) e a duração da atividade laboral não mostraram OR, estatisticamente significativo, para elevação do TSH no modelo múltiplo. O modelo de regressão logística empregado para identificar o risco (OR) de apresentar concentrações de T3R acima do terceiro quartil (21 ng/dL) é apresentado na Tabela 11.

Tabela 11- Razão de Chances (OR) para as concentrações de T3 reverso estarem acima do terceiro quartil em relação ao tabagismo, mercúrio urinário, tempo de atividade laboral e marcadores de autoimunidade - 2016 a 2017

Variáveis	OR	IC 95%		Valor de p
		Inferior	Superior	
Tabagismo	1,52	0,58	3,96	0,391
Hg urinário ^a	3,34	1,03	10,82	0,044
AC ATPO	2,39	0,27	20,75	0,431
AC ATG	0,00	0,00	...	0,999
Tempo de atividade laboral	0,53	0,16	1,75	0,297
Constante	0,18	...	...	0,000

a: Hg urinário agrupado (≤ 10 ou > 10 $\mu\text{g/L}$)

IC: Intervalo de confiança 95%

O modelo de regressão univariada mostrou que as variáveis: faixa etária, IMC, tabagismo, consumo de álcool e selênio, não mostraram OR estatisticamente significativo para apresentar as concentrações de T3R acima do terceiro quartil, conforme mostra a Tabela 11.

A concentração de Hg urinário mostrou o OR, estatisticamente significativo ($p=0,044$) no modelo de regressão logística múltipla. O R^2 de Nagelkerke correspondeu a 0,131.

6.8 Características do parênquima tireoidiano observadas no ultrassom com Doppler de tireoide

As características da tireoide, observadas no ultrassom (US) duplex-Doppler, em expostos ao Hg e indivíduos do grupo controle, são apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12- Características da tireoide, observadas no ultrassom duplex-Doppler, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017

Característica	Não expostos		Expostos ao Hg		Total		Valor de p ¹
	N	%	N	%	N	%	
Localização tópica	55	100	55	100	55	100	..
Dimensão normal	42	76,4	38	69,1	80	72,7	0,391
Dimensão aumentada	13	23,6	13	23,6	26	23,6	
Dimensão reduzida	-	-	4	7,3	4	3,6	
Contorno regular	38	69,1	34	61,8	72	65,5	0,423
Contorno irregular	17	30,9	21	38,2	38	34,5	
Ecogenicidade normal	50	90,9	40	72,7	90	81,8	0,026
Ecogenicidade reduzida	5	9,1	15	27,3	20	18,2	
Ecotextura normal	14	25,5	12	21,8	26	23,6	0,302
Ecotextura heterogênea	6	10,9	12	21,8	18	16,4	
Ecotextura finamente heterogênea	35	63,6	31	56,4	66	60	
Vascularização normal	15	27,3	20	36,4	35	31,8	0,184
Vascularização aumentada	40	72,7	33	60,0	73,0	66,4	
Vascularização reduzida	-	-	2	3,6	2	1,8	
Total	55	100	55	100	110	100	..

1: Teste do Qui-quadrado de Pearson, com correção de continuidade de Yates

Todos os participantes do estudo apresentaram a tireoide em localização tópica.

Em 80 indivíduos (72,7%), as dimensões da tireoide estavam dentro do padrão de normalidade (6 a 15 cm³), com proporções similares entre os indivíduos expostos ao Hg e o grupo controle ($p=0,391$), conforme mostra a Tabela 12.

Foram observadas dimensões reduzidas da glândula em quatro indivíduos expostos (7,3%), com redução da vascularização do parênquima. Nenhum dos participantes do grupo controle apresentou esta alteração.

O bócio foi observado com mesma frequência em ambos os grupos (23,6%), conforme mostra a Tabela 12.

A ecotextura heterogênea do parênquima foi mais frequente em expostos ao Hg, observada em 12 indivíduos expostos (21,8%) e, no grupo controle, em seis participantes (10,9%). Entretanto, considerando os aspectos da ecotextura heterogêneo e finamente heterogêneo, não se observou associação estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,302$), conforme mostra a Tabela 12.

A alteração mais frequente do parênquima, em ambos os grupos, foi o aumento da vascularização do parênquima, observado em 66 % dos participantes do estudo.

Não se observou associação estatisticamente significativa entre as variáveis de exposição ao Hg e o aumento de vascularização do parênquima ($p = 0,184$), conforme mostra a Tabela 12.

A redução de ecogenicidade do parênquima foi mais frequente em indivíduos expostos ao Hg, quando comparados aos controles. O teste de Qui-quadrado de Pearson mostrou associação estatisticamente significativa entre a redução de ecogenicidade e a exposição ao Hg ($p = 0,026$), conforme mostra a Tabela 12.

Em indivíduos com redução de ecogenicidade do parênquima no US, a média das concentrações de Hg foi mais elevada, em relação aos que apresentavam o padrão normal, conforme mostra a Figura 8.

Figura 8 – Representação gráfica da comparação de médias das concentrações de mercúrio urinário, de acordo com a ecogenicidade do parênquima da tireoide - 2016 a 2017

As características ecográficas dos nódulos tireoidianos são apresentadas na Tabela 13.

A presença de nódulos foi observada em 31 participantes do estudo (28,2%), sendo 16 destes do grupo controle (29,1%) e 15 do grupo exposto ao Hg (27,3%).

Tabela 13 - Características ecográficas dos nódulos tireoidianos, segundo grupos de exposição - 2016 a 2017

Características	Expostos ao Hg		Não expostos		Total	
	N	%	N	%	N	%
Menor que 1 cm	10	66,7	11	68,7	21	67,7
Entre 1 e 2 cm	3	20,0	3	18,7	6	19,4
Maior que 2 cm	2	12,5	2	12,5	4	12,9
Sólido	7	46,7	3	18,8	10	32,3
Misto	5	33,3	10	62,5	15	48,4
Cístico	3	20,0	3	18,8	6	19,4
Lobo direito	7	46,6	9	56,3	16	51,6
Lobo esquerdo	7	46,6	6	37,5	13	41,9
Istmo	1	6,6	1	6,3	2	6,4
Isoecogênico	6	40,0	7	43,8	13	41,9
Hipoecogênico	5	33,3	7	43,8	12	38,7
Hiperecogênico	2	13,3	-	-	2	6,5
Anecoico	2	13,3	2	12,5	4	12,9
Contorno regular	13	86,7	16	100,0	29	93,5
Contorno irregular	2	13,3	-	-	2	6,5
Halo presente	4	26,7	7	43,8	11	35,5
Halo ausente	11	73,3	9	56,3	20	64,5
Vascularização I	5	33,5	3	18,8	8	25,8
Vascularização II	2	13,3	10	62,5	12	38,7
Vascularização III	6	40,0	2	12,5	8	25,8
Vascularização IV	2	13,3	1	6,3	3	9,7
Calcificação ausente	11	73,3	15	93,8	26	83,9
Microcalcificação	4	26,7	1	6,3	4	12,9
Calcificação "casca de ovo"	-	-	1	6,3	1	3,2
Total	15	100	16	100	31	100

Vascularização I- ausente, II- periférica, III- periférica maior que central, IV- predominantemente central, V- central

As dimensões dos nódulos variaram de 0,2 cm a 7,7 cm. O nódulo com maiores dimensões e volume foi observado em um participante do grupo controle. A maioria dos nódulos apresentaram dimensões menores que 1 cm (67,7%), em ambos os grupos.

Observa-se na Tabela 13, que predominou o nódulo do tipo sólido no grupo exposto ao Hg (46,7%). Este tipo de nódulo atinge uma pontuação mais elevada no modelo TI-RADS para classificação de risco. No grupo controle, predominou o nódulo misto (62,5%). A proporção de nódulos císticos, geralmente classificados como benignos, foi similar entre os e o grupo controle, correspondendo a 20% e 18,8% respectivamente.

A Tabela 14 mostra as características ecográficas sugestivas de malignidade dos nódulos tireoidianos de participantes da pesquisa, segundo critérios de CHAMMAS et al. (2005) e HAUGEN et al. (2015).

Tabela 14 - Características dos nódulos tireoidianos (suspeitos de malignidade), segundo grupos de exposição e classificação citológica de Bethesda - 2016 a 2017

Exposto	Tipo	Dimensã o máxima	Ecogenicidade	Margem	MC	VASC	IR	Bethesda
Sim	Sólido	2,1	hipoecogênico	irregular	sim	IV	0,7	V
	Sólido	0,5	hipoecogênico	irregular	sim	IV	0,7	V
	Sólido	0,9	isoecogênico	regular	sim	IV	0,5	V
	Misto	1	isoecogênico	regular	sim	III	0,6	II
Não	Misto	7,7	isoecogênico	regular	sim	III	0,6	II
	Misto	2,7	hipoecogênico	regular	não	IV	0,7	V

MC: microcalcificações

VASC: Vascularização II - fluxo exclusivamente periférico; III - fluxo periférico igual ou maior que o central, IV- fluxo central maior que o periférico

IR: índice de resistividade

Classificação de Bethesda: II- Nódulo benigno; V- Lesão suspeita de malignidade

A presença de microcalcificações; a vascularização predominantemente central; a hipoeogenicidade e o contorno irregular, considerados como aspectos suspeitos de malignidade dos nódulos, foram observados em quatro indivíduos expostos ao Hg e em dois controles, conforme mostra a Tabela 14.

A Tabela 15 mostra o aspecto ecográfico dos nódulos tireoidianos, classificados segundo o sistema *Thyroid Imaging Reporting and Data System* (TI-RADS), proposto pelo *American College of Radiology* (Tessler et al., 2017).

Foram observadas características classificadas como altamente suspeitas de malignidade, pelo sistema TI-RADS, em três indivíduos expostos ao Hg. Nenhum indivíduo do grupo controle atingiu esta pontuação, conforme mostra a Tabela 15.

Tabela 15 - Características dos nódulos tireoidianos, segundo critérios de classificação do sistema TI-RADS - 2016 a 2017

TIRADS	Não exposto		Expostos ao Hg		Total	
	N	%	N	%	N	%
Benigno	3	18,8	3	20,0	6	19,4
Não suspeito	3	18,8	3	20,0	6	19,4
Levemente suspeito	7	43,8	4	26,7	11	35,5
Moderadamente suspeito	3	18,8	2	18,8	5	16,1
Altamente suspeito	-	-	3	20,0	3	9,7
Total	16	100	15	100	31	100

TI-RADS: Thyroid Imaging Reporting Data System

A Tabela 16 mostra os aspectos observados na ultrassonografia dos nódulos tireoidianos cujas características não indicavam suspeita de malignidade, segundo critérios de Chammas et al.,2005 e Haugen et al.,2015.

Tabela 16 - Características dos nódulos tireoidianos (não suspeitos de malignidade), segundo grupos de exposição, não classificados como suspeitos - 2016 a 2017

Exposição	Tipo	Dimensão máxima	Ecogenicidade	Margem	Vascularização	IR
Sim	sólido	0,4	hipoecogênico	regular	periférica	0,56
	sólido	0,8	hiperecogênico	regular	periférica predominante	0,54
	sólido	0,6	isoecogênico	regular	ausente	...
	misto	0,5	isoecogênico	regular	ausente	...
	misto	1,1	isoecogênico	regular	periférica predominante	0,51
	misto	0,8	isoecogênico	regular	periférica	0,53
	misto	2,3	isoecogênico	regular	periférica predominante	0,63
	misto	1	isoecogênico	regular	periférica predominante	0,52
	cístico	0,5	anecogênico	regular	ausente	...
	cístico	0,5	anecogênico	regular	ausente	...
	cístico	0,5	anecogênico	regular	ausente	...
	sólido	0,9	isoecogênico	regular	periférica	0,59
	sólido	0,9	isoecogênico	regular	periférica	...
	sólido	1,9	isoecogênico	regular	periférica	0,6
Não	misto	0,7	hipoecogênico	regular	ausente	..
	misto	0,4	hipoecogênico	regular	periférica	0,62
	misto	1	isoecogênico	regular	periférica	0,49
	misto	1,7	isoecogênico	regular	periférica	0,51
	misto	0,2	hipoecogênico	regular	periférica	0,62
	misto	0,62	hipoecogênico	regular	periférica	...
	misto	0,8	isoecogênico	regular	periférica	0,52
	misto	0,9	isoecogênico	regular	periférica predominante	0,49
	cístico	0,3	anecogênico	regular	ausente	...
	cístico	0,3	anecogênico	regular	ausente	...
	cístico	0,7	isoecogênico	regular	periférica	0,54

IR: índice de resistividade

Todos os nódulos apresentavam margens regulares, não se observou a presença de microcalcificações, ou padrão de vascularização central. Os índices de resistividade foram mais baixos, em relação aos nódulos suspeitos de malignidade.

Considerando a combinação dos aspectos indicativos de risco de malignidade foram identificados quatro indivíduos expostos ao Hg e dois controles apresentavam nódulos suspeitos, sendo indicada a complementação de investigação por meio da punção aspirativa por agulha fina, guiada pelo US.

A análise citológica do material obtido em nódulos pela PAAF, bem como os resultados de exames anatomopatológicos dos expostos e dos controles, é descrita a seguir.

Exposto 01:

PBO, 52 anos, exerceu a atividade laboral de mecânico de manutenção, durante 22 anos, apresentava concentração de Hg urinário de 20,9 µg/L. As concentrações hormonais estavam dentro dos limites de normalidade, exceto o TSH, um pouco elevado: 4,22 µIU/ml. A concentração de selênio no sangue foi 62 µg/l, e o iodo urinário: 287 µg/l. Os anticorpos AC TPO e AC TG foram negativos.

No ultrassom, foi identificado um nódulo sólido, de aspecto hipoecogênico, heterogêneo, contornos irregulares, com microcalcificações no seu interior, sem abaulamentos, localizado no terço superior do lobo tireoidiano direito, medindo cerca de 2,0 x 1,8 x 1,2 cm, com formato mais alto que largo (Figura 9). O linfonodo apresentava aspecto sólido, hipoecogênico, heterogêneo, de contornos regulares, sem hilo, com presença de microcalcificações no seu interior, localizado no nível III à direita, medindo cerca de 1,2 x 0,8 cm.

Realizada a punção do nódulo e linfonodo suspeitos, por agulha fina, guiada por ultrassom. O exame citológico do material aspirado do nódulo mostrou resultado inconclusivo, por material celular escasso, compatível com a Classificação I de Bethesda. O exame de linfonodo do nível III direito mostrou: resultado citológico de carcinoma papilífero de tireoide (metastático).

A Tiroglobulina no líquido aspirado mostrou concentrações bem elevadas: 74040,7 ng/ml (valor de referência menor que 0,2 ng/ml).

Figura 9 - A: nódulo no terço superior do lobo direito, hipocogênico, com áreas císticas de permeio, de contornos irregulares, parcialmente delimitado por fino halo, com microcalcificações, medindo cerca de 2,1 x 1,3 x 1,1 cm. B: Vascularização do nódulo periférica e central equilibrada. C: linfonodo nível III à direita.

Foi indicada cirurgia e o exame anatomopatológico mostrou, no produto da tireoidectomia total, carcinoma papilífero de tireoide, variante histológica clássica, com presença de três focos, sendo o maior no lobo direito (4,0 cm) e dois menores no lobo esquerdo (0,8 e 2,0 cm), com extensão extra tireoidiana. Identificadas metástases em dois linfonodos peritireoidianos, com positividade em 22 de 56 linfonodos dissecados.

Exposto 02:

DP, 58 anos, exerceu a função de mecânico de manutenção, por aproximadamente 13 anos, com exposição ao Hg metálico neste período.

Apresentou concentrações de Hg urinário de 78 µg/l. As concentrações hormonais estavam dentro dos limites de normalidade - TSH: 0,75 µIU/ml; T4 L: 1,29 ng/dl; T3: 116 ng/dl; T3L: 0,31 ng/dl e T3R:18 ng/dl. A concentração de selênio no sangue foi 74 µg/l e o iodo urinário 294 µg/l. Os anticorpos AC TPO e AC TG foram negativos.

Foi realizada punção, guiada pelo ultrassom, de nódulo hipocogênico, localizado no terço superior do lobo direito, com contornos irregulares, sem halo, mais alto do que largo, com presença de microcalcificações, medindo cerca de 0,6 x 0,4 x 0,4 cm. Ao estudo com Doppler, observou-se vascularização predominantemente central (padrão IV de Chammas).

A análise citológica mostrou quadro suspeito para carcinoma papilífero, correspondendo à Classificação V de Bethesda.

Foi realizada cirurgia, e o exame anatomopatológico mostrou no produto da tireoidectomia total carcinoma papilífero.

Exposto 03:

JHS, 54 anos, operador de máquinas, por aproximadamente 13 anos, teve exposição ao Hg metálico neste período, apresentou valores de Hg urinário de 12 µg/l. As concentrações hormonais estavam dentro dos limites de normalidade: TSH: 1,41 µIU/ml; T4 L: 1,60 ng/dl; T3: 133 ng/dl; T3L 0,33 ng/dl e T3R: 25 ng/dl. A concentração de selênio no sangue foi 73 µg/l, e o iodo urinário apresentou valores reduzidos: 68 µg/l. Os anticorpos AC TPO e AC TG foram negativos.

Foi realizada punção de nódulo predominantemente sólido, isoecogênico, localizado entre a face anterior do terço médio e inferior do lobo esquerdo, de contornos regulares e parcialmente definidos, com halo incompleto e presença de microcalcificações, medindo cerca de 0,9 x 0,7 x 0,7 cm. Ao estudo com Doppler, observou-se vascularização predominantemente central (padrão IV de Chammas). A análise citológica mostrou resultado suspeito para carcinoma papilífero de tireoide, correspondendo à Classificação V de Bethesda

Foi indicado o tratamento cirúrgico e o exame histológico mostrou um microcarcinoma papilífero da tireoide, encapsulado, com as seguintes características: variante histológica clássica; sem múltiplos focos; localização no terço médio de lobo esquerdo, medindo 0,8 cm no maior eixo; não foi detectada extensão extratireoidiana; invasão angiolinfática; ou invasão perineural. Margens cirúrgicas livres de neoplasia.

Exposto 04:

EAM, 49 anos, mecânico de manutenção, teve exposição ao Hg metálico por aproximadamente 25 anos. As concentrações hormonais foram: TSH: 1,98 µIU/ml; T4 L: 0,76 ng/dl; T3: 98 ng/dl; T3L 0,37 ng/dl e T3R: 18 ng/dl. O valor de Selênio no

sangue foi 91 µg/l e o Iodo urinário: 220 µg/l. Os anticorpos AC TPO e AC TG foram negativos.

Realizadas múltiplas punções aspirativas, guiadas por ultrassonografia, de nódulo hipoecogênico, bem delimitado, com halo, com presença de micro e macrocalcificações, medindo 1,0 x 0,8 x 0,9 cm, localizado no terço superior do lobo esquerdo.

O exame citológico mostrou quadro citológico de nódulo colóide, associado à tireoidite linfocítica. O diagnóstico se enquadra na Classificação II de Bethesda.

Controle 01

SAP, 42 anos, motorista de transporte rodoviário. As concentrações hormonais estavam dentro dos limites de referência: TSH: 2,42 µIU/ml; T4 L: 0,82 ng/dl; T3: 89 ng/dl; T3L 0,30 ng/dl e T3R:13 ng/dl. A concentração de Selênio no sangue correspondeu a 59 µg/l, e o Iodo urinário: 235 µg/l. Os anticorpos AC TPO e AC TG foram negativos.

Realizadas punções aspirativas, guiadas por ultrassom, das seguintes lesões:

- Nódulo 01: sólido isoecoico, no terço inferior do lobo esquerdo, com calcificações que dificultam a avaliação, de contornos regulares, medindo cerca de 0,4 x 0,3 x 0,4 cm;

- Nódulo 02: misto, predominantemente sólido isoecoico, ocupando quase todo o lobo direito, com áreas císticas em permeio, com microcalcificações, de contornos regulares, medindo cerca de 7,5 x 5,0 x 5,8 cm. A imagem do nódulo observado no ultrassom com Doppler é apresentada na Figura 10.

A análise citológica do primeiro nódulo foi inconclusiva, enquadrando-se na Classificação I de Bethesda (amostra insatisfatória). A análise do segundo nódulo mostrou quadro citológico de bócio adenomatoso, enquadrando-se na Classe II de Bethesda (nódulo benigno).

Realizado tratamento cirúrgico e o exame anatomopatológico mostrou: carcinoma folicular da tireoide invasivo, com invasão vascular extensa (4 vasos). Não foi detectada invasão linfática; perineural e extratireoideana. Os achados adicionais foram aspecto de tireoidite linfocítica e bócio multinodular.

Figura 10- A: Nódulo misto, no lobo direito, isoecogênico, delimitado por fino halo, com microcalcificações e calcificações grosseiras, medindo cerca de 7,6 x 5,0 x 5,7 cm. B: Doppler apresenta vascularização periférica e central equilibradas.

Controle 02:

SAP, 43 anos, motorista de transporte rodoviário. As concentrações hormonais estavam dentro dos limites de referência: TSH: 0,94 μ IU/ml; T4 L: 1,09 ng/dl; T3: 146

ng/dl; T3L 0,35 ng/dl e T3R:17 ng/dl. O valor de Selênio no sangue foi 56 µg/l e o Iodo urinário: 235 µg/l. Os anticorpos AC TPO e AC TG foram negativos.

Realizada punção de nódulo localizado na transição entre o istmo e o lobo esquerdo, predominantemente sólido, de contornos regulares e limites bem definidos, com halo, sem calcificações, medindo cerca de 2,7 x 1,7 x 2,5 cm (Vol.: 5,96 cm³). Ao estudo com Doppler apresentou padrão de vascularização IV de Chammas.

Realizada análise citológica do material aspirado do nódulo que mostrou lesão suspeita de malignidade Classificação V de Bethesda.

O paciente foi encaminhado para tratamento cirúrgico e o exame anatomopatológico mostrou: microcarcinoma papilífero, bem diferenciado, variante clássica, medindo 1 mm localizado em lobo esquerdo, foco único. Estadiamento patológico: adenoma folicular, medindo 2,5 cm no maior eixo, localização no istmo, sem invasão de cápsula e sem invasão vascular, margens cirúrgicas livres. Outros achados: granulomas sarcoide multifocais com células gigantes multinucleadas.

7. DISCUSSÃO

7 DISCUSSÃO

A forma elementar do Hg, por ser altamente volátil, é facilmente inalável e bem absorvida pelos alvéolos, a partir dos quais é transportado pelo sangue para outros órgãos. Os vapores do Hg metálico, portanto, além da ação tóxica nas vias aéreas quando inalados em grandes concentrações, exercem também ação neurotóxica, assim como podem levar a alterações endócrinas (WHO, 2003; Zhu et al., 2000; Lucchini et al., 2003; Iavicoli et al., 2009; Tan et al., 2009). No presente estudo, foi analisada a possibilidade de associação entre a exposição crônica aos vapores de Hg e alteração da função hormonal tireoidiana e do parênquima da glândula, mesmo depois de cessar a exposição.

7.1 Características sociodemográficas dos participantes do estudo

As intoxicações por Hg podem ocorrer em todas as faixas etárias, mas o risco atinge principalmente os trabalhadores expostos (Faria, 2003). As indústrias de fabricação de lâmpadas fluorescentes, bem como a produção de cloro-álcalis e termômetros são fontes reconhecidas de exposição ocupacional ao Hg, e consideravelmente maiores em relação à exposição da população geral. (Clarkson, 1997; WHO, 2003; Faria, 2003; Holmes et al., 2009).

Observou-se no estudo, que todos os expostos exerceram atividades laborais no setor industrial, predominando o ramo de fabricação de lâmpadas (96%), seguido pela produção de termômetros e de cloro e álcalis.

Apesar dos efeitos tóxicos do Hg serem conhecidos desde os séculos passados (Ramazzini, 1700), medidas de controle mais restritivas, para redução da exposição ao Hg, ainda são necessárias em muitos países (O'Reilly et al., 2017). Acidentes de

grandes proporções, como o ocorrido em Minamata, no Japão, evidenciam a necessidade de regulação e redução do uso de Hg. A Convenção de Minamata, assinada em 2013, por 140 países, constitui um marco regulatório importante para redução do uso do Hg e seus compostos.

No presente estudo, verificou-se, pelo relato dos trabalhadores, a ocorrência de diversas situações que favoreciam o derramamento de Hg no ambiente industrial. A mais citada foi o rompimento de lâmpadas, por falha das máquinas, ou intencional para o reaproveitamento de componentes. Além da quebra de lâmpadas, as falhas das máquinas injetoras de Hg ocasionavam extravasamentos de metal no ambiente. Alguns operadores referiram que, por desconhecimento dos riscos, utilizavam ar comprimido para remoção de lâmpadas quebradas, o que pode ter contribuído para dispersão do Hg no ar. As operações como o abastecimento dos reservatórios das máquinas ou das células eletrolíticas com Hg líquido, a limpeza dos dosadores de Hg, expunham os trabalhadores ao contato direto com o metal.

A proporção de indivíduos do grupo controle que apontaram a presença de riscos químicos no ambiente de trabalho foi menor, correspondendo a 12,7%. Não foi possível excluir todas as exposições a substâncias químicas no grupo controle. Entretanto, os expostos aos agentes com reconhecidos efeitos tóxicos para a tireoide, como metais, pesticidas e radiações ionizantes, não foram incluídos no estudo.

O calor foi apontado por 98% dos trabalhadores expostos ao Hg. Asano et al. (2000) relatam que o Hg pode formar vapores no ambiente, mesmo em temperaturas baixas como 8,5° C. Na temperatura de 20° C. a concentração de vapor de Hg pode atingir 13,2 mg/m³, excedendo o limite aceitável de 0,05 mg/m³ (Asano et al., 2000). Em indústrias de lâmpadas, o aquecimento é necessário em diversas etapas, desde a

modelação dos tubos, até a junção dos componentes. A temperatura mais elevada no ambiente industrial favorece a formação de vapores de Hg, aumentando a exposição dos trabalhadores.

A exposição ao ruído, calor e risco de acidentes, foram mais frequentes nos expostos ao Hg, conforme mostrou a Figura 1. A diferença é explicada pelos critérios de seleção dos indivíduos, predominando o setor econômico de serviços no grupo controle, para exclusão de possíveis exposições aos metais e pesticidas.

Em relação à utilização do EPI, conforme mostrou a Tabela 2, apenas 38,2% dos trabalhadores expostos ao Hg utilizavam a máscara de proteção respiratória. Entretanto, o uso dos óculos de segurança, para proteção ocular contra o impacto de partículas volantes, foi relatado pela maioria dos trabalhadores (96,4%). A forma de uso do EPI pode ser relacionada à percepção do risco. Vários trabalhadores relataram que reconheciam o risco de acidentes, até pela quebra frequente das lâmpadas, mas desconheciam o risco de exposição ao Hg, durante o período laboral. Muitos operadores relataram que passaram a identificar o risco de exposição ao Hg mais tardiamente, após o desligamento da empresa, ou no final do período de trabalho. Outros possíveis fatores relacionados a não utilização do EPI, seriam o desconforto, ou falta de fornecimento do dispositivo por parte da empresa, mas estas questões não foram investigadas no presente estudo.

Referente à situação ocupacional, observou-se na Figura 2 uma proporção significativamente mais elevada de trabalhadores aposentados entre os expostos ($p < 0,05$). Como parte do grupo controle foi selecionado entre os trabalhadores ativos do Hospital, ou de outros Setores de Serviço, a diferença pode ser, parcialmente, devida ao critério de seleção. Além deste fator, a presença de sintomas e alterações

neuropsíquicas mais frequentes nos expostos ao Hg, como mostrou a Tabela 6, pode estar associada à maior proporção de inativos no mercado de trabalho em expostos ao Hg.

7.2 Características de idade e medidas ponderais dos indivíduos

De modo similar aos estudos realizados em trabalhadores expostos ao Hg metálico (Barregard et al., 1994; Ellingsen et al., 2000), a amostra foi constituída por 55 indivíduos expostos ao Hg no trabalho e 55 controles.

Os grupos foram similares quanto ao grau de escolaridade dos indivíduos, idade e IMC. Este pareamento é favorável ao melhor controle das variáveis que podem estar associadas a níveis mais elevados de TSH, ou de potenciais confundidores.

Nos estudos de Surks e Hollowell (2007), foi observada uma elevação progressiva do TSH com o aumento da idade. Baumgartner et al. (2014) observaram que o hipotireoidismo subclínico pode atingir até 18% dos idosos e destacam a importância da observação clínica para o aumento do TSH com o decorrer da idade.

Além da idade, o IMC também pode ter uma associação positiva com as concentrações de TSH (Nyrnes et al., 2006). No presente estudo, a proporção de indivíduos obesos, que corresponde ao IMC superior a 30 kg/m², foi igual entre os expostos e controles.

As variáveis idade e IMC não mostraram um valor preditivo, no modelo de regressão logística univariada, para elevação das concentrações de TSH.

Referente ao hábito e duração do tabagismo, não se observou, no presente estudo, diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,235$).

A tireoidite de Hashimoto é mais comum entre fumantes (Pearce et al., 2003). Os autores consideram que a incidência maior em tabagistas pode estar associada à presença dos tiocianatos no cigarro.

Na análise de regressão logística múltipla, o tabagismo não mostrou uma razão de chances, estatisticamente significativa para elevação das concentrações de TSH.

O consumo de álcool também não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,136$).

7.3 Análise dos exames toxicológicos e duração da atividade laboral

No presente estudo, a média das concentrações de Hg urinário, dos expostos ao Hg, atingiu 51,9 $\mu\text{g/L}$, e foi significativamente mais elevada em relação aos controles ($p=0,000$).

A análise de Hg na urina é considerada a forma de monitoramento toxicológico mais precisa para exposição crônica ao Hg metálico (Tsuji, 2003; WHO, 2003). A dosagem no sangue é menos precisa para forma metálica, porque o exame sofre interferência do Hg orgânico, geralmente proveniente da dieta (Tsuji, 2003). Contudo, alguns autores destacam a importância de alguns cuidados na sua interpretação, por não ser um bom indicador dos efeitos tóxicos (Kark, 1994; Gattineni et al., 2007; Bernhoft, 2012).

A legislação trabalhista no Brasil estabelece a obrigatoriedade da dosagem de Hg na urina, semestralmente, e define como valor máximo permitido até 35 $\mu\text{g/g}$ de creatinina (Norma Regulamentadora N°. 07 do Ministério do Trabalho e Emprego, 1994). Quando a análise não incluía a correção pela creatinina, o valor máximo permitido correspondia a 50 $\mu\text{g/L}$. A média das concentrações de Hg urinário, durante o

período laboral, estava acima do limite máximo. Após o afastamento da atividade laboral, as concentrações de Hg urinário reduziram, atingindo valores similares ao grupo controle, conforme mostrou a Figura 3. Esta diferença evidencia a elevada exposição ao Hg durante o período laboral.

Bose-O'Reilly et al. (2017) propõem uma classificação para análise do Hg em amostras biológicas, baseada nos limites de tolerância da Alemanha, conhecidos como BAT (*biological tolerance value*). São considerados como limites seguros para população (não exposta ao Hg) até 1 µg/L de Hg na urina. Para os trabalhadores expostos, são considerados como níveis baixos até 7 µg/L; acima de 7 µg/L e até 25 µg/L, foi classificado como nível de alerta; acima de 25 µg/L, como nível elevado de exposição ocupacional; acima de 30 µg/L, considera-se que a concentração de Hg ultrapassou o limite de tolerância da exposição.

De acordo com a agência American Conference of Governmental Industrial Hygienists, o limite máximo permitido para exposições laborais é de 20 µg/g de creatinina (ACGIH, 2013).

Comparando os limites estabelecidos por outros países, observa-se que os limites de tolerância ocupacional são mais restritivos, quando comparados à legislação do Brasil. Estes limites foram estabelecidos após a realização de estudos toxicológicos e epidemiológicos, visando à prevenção de alterações neurológicas e renais dos trabalhadores expostos. Considerando os resultados destes estudos, é recomendável uma revisão da legislação brasileira, para o estabelecimento de limites mais seguros de exposição laboral.

Para as atividades de líder de produção, operador de máquina de bombear e mecânico de manutenção, conforme mostrou a Figura 4, a média das concentrações de

Hg urinário ultrapassou o limite de 50 µg/L. Nestas atividades, segundo a descrição dos operadores, havia o contato direto e frequente com o metal, o que pode explicar as concentrações mais elevadas de Hg no ambiente e no exame urinário.

Tsuji et al. (2003) relatam que o exame urinário apresenta uma correlação significativa com as concentrações de Hg no ar, quando as dosagens ambientais estão abaixo de 50 µg/m³. Acima deste valor, a correlação não é precisa, e limitam o uso do exame para o controle das exposições.

As concentrações do Hg na urina variaram de 2 a 180 µg/L, conforme mostrou a Tabela 6. O extenso intervalo entre o valor mínimo e o máximo pode ser relacionado a diferenças nas concentrações ambientais, às variações individuais na excreção do Hg, ou mesmo por diferenças nas análises laboratoriais. As análises de Hg urinário do período de exposição foram realizadas em laboratórios diferentes, não sendo possível obter uma padronização.

No presente estudo, os resultados do exame toxicológico, realizados durante o período laboral, foram obtidos no prontuário médico. Não se teve acesso ao conjunto de análises das concentrações de Hg urinário, como nos estudos realizados por Barregard et al. (1994) e Ellingsen et al. (2000). A análise do histórico de exames possibilita a identificação de trabalhadores com maior exposição, bem como a detecção de variações na excreção urinária do Hg, ao longo do período de exposição ocupacional.

Em relação ao período da atividade laboral, observou-se uma duração longa, com média de 14,5 anos, semelhante a outros estudos (Barregard et al., 1994); Ellingsen et al., 2000). A duração prolongada do período laboral é um dos fatores que contribuem para aumentar o risco de toxicidade na exposição ao Hg. No presente estudo, observou-

se que a duração do trabalho mostrou uma correlação positiva, estatisticamente significativa, com as concentrações de Hg urinário ($p < 0,01$).

7.4 Análise dos sintomas e sinais observados nos participantes

Observou-se neste estudo uma proporção mais elevada de sintomas sugestivos de intoxicação em expostos ao Hg, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Os sintomas mais referidos por expostos ao Hg foram alteração da saliva, inflamação gengival, problemas de memória, nervosismo, insônia, fadiga e dificuldade de concentração, sendo relatados por 80% ou mais dos indivíduos. No exame clínico, as alterações mais frequentes foram a presença de tremor intencional e o teste de Romberg positivo. A presença de disdiadocinesia e alteração do teste indicador-nariz foram observadas somente nos expostos ao Hg.

Drasch et al. (2001) relatam que os sintomas de fadiga, tremores, problemas de memória, cansaço, perda de peso, insônia, gosto metálico, foram muito frequentes em mineradores expostos ao Hg nas Filipinas.

Bose-O'Reilly et al. (2017) realizaram estudos seccionais envolvendo cinco países, da África e da Ásia, para identificar indicadores essenciais da intoxicação crônica pelo Hg, em mineradores de ouro e moradores da área contaminada. Os sinais e sintomas identificados como mais significativos foram gosto metálico, salivação excessiva, coloração acinzentada da gengiva, piora do estado de doenças prévias, tremores de movimento, distúrbio do sono, ataxia, tremor na realização do teste indicador-nariz, disdiadocinesia, ataxia no teste calcanhar-joelho. Os autores

observaram uma associação significativa entre a exposição ao Hg e alterações como cefaleia, tontura, nervosismo, tristeza, palpitação, bradicinesia e hipomímia ($p < 0,05$).

Os sintomas e sinais observados no presente estudo, em expostos, foram similares aos achados por Bose-O'Reilly et al. (2017), com associação, estatisticamente significativa, entre os sintomas, a duração do trabalho e a exposição ao Hg, como mostrou a Tabela 7.

Doering et al. (2016) elaboraram um algoritmo para o diagnóstico da intoxicação crônica por Hg, envolvendo a combinação de sintomas e sinais, a aplicação de testes neuropsicológicos (memória e coordenação motora) e a análise de Hg em fluidos biológicos, ou no cabelo. No algoritmo de diagnóstico, se os valores de Hg urinário estivessem entre 7 e 25 $\mu\text{g/L}$, a soma de sintomas, sinais clínicos e do teste neuropsicológico deveria atingir cinco a dez pontos para o diagnóstico de intoxicação. Se os valores de Hg urinário estivessem acima de 25 $\mu\text{g/L}$, a soma deveria atingir três a quatro pontos.

Conforme resultados obtidos no presente estudo, três indivíduos apresentaram concentrações de Hg urinário abaixo de 7 $\mu\text{g/L}$ e dois trabalhadores não dispunham dos resultados de exames. Os demais indivíduos do grupo exposto preencheriam os critérios diagnósticos de intoxicação propostos por Doering et al. (2016), considerando os indicadores de sintomas e sinais, associados às concentrações de Hg urinário acima de 7 $\mu\text{g/L}$. Entretanto, não foi possível obter a avaliação neuropsicológica de todos os participantes do estudo, para o preenchimento dos critérios de diagnóstico da intoxicação crônica.

Conforme mostrou a Tabela 7, os sintomas neuropsicológicos mostraram uma correlação positiva, estatisticamente significativa ($p < 0,01$), com a duração do trabalho e as concentrações de Hg urinário.

Beate et al. (2010) observaram resultados similares em um estudo de coorte, realizado em mineradores da Tanzânia e Zimbábue. Houve uma correlação significativa entre o Hg urinário e os sintomas de insônia, cansaço, dificuldade de concentração, tristeza e tremores.

Os estudos seccionais e de coorte, realizados anteriormente, envolvem grandes amostras de trabalhadores expostos ao Hg metálico, e os resultados estão em concordância com os achados do presente estudo.

7.5 Comparação das concentrações hormonais

O presente estudo teve como objetivo avaliar uma possível alteração dos hormônios, por ação tóxica do Hg sobre as desidases.

Observou-se que as médias das concentrações de T3, T3L e T4L, bem como a relação entre o T4L e T3L, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Barregard et al. (1994) observaram que a relação T4L:T3L foi mais alta em expostos ao Hg, com diferença estatisticamente significativa, por redução do T3L. Os autores também relatam que houve uma correlação negativa entre o T3L e as concentrações cumulativas de Hg urinário. A média do tempo de exposição, observada pelos autores, foi longa (10 anos), assim como no presente estudo (14 anos). De modo similar, as médias de concentrações Hg urinário foram elevadas em ambos os estudos.

A população estudada nesta pesquisa distinguiu-se do estudo de Barregard et al. (1994) pelo fato de os expostos, do presente estudo, estarem afastados da atividade laboral, em média, há 14,5 anos. O período mais tardio da análise pode ser uma das razões para a obtenção de resultados diferentes.

Observou-se neste estudo que 20 % dos indivíduos expostos e 32 % dos controles apresentavam concentrações de T3L elevado. Os exames foram repetidos, confirmando-se a elevação das concentrações hormonais. Este achado pode ser relacionado à metodologia de análise do hormônio por imunoensaio competitivo. O método é dependente de proteínas transportadoras de hormônios e a alteração destas, ou da afinidade à globulina ligadora (tireoglobulina), poderia ocasionar resultados falsamente alterados das concentrações hormonais (Carvalho et al., 2013). As proteínas transportadoras não foram analisadas neste estudo, entretanto, os fatores externos que poderiam alterar as concentrações das proteínas, como uso de medicações, ou a presença doenças renais e hepáticas graves, foram excluídos. Outras condições como as variações raciais, podem estar relacionadas a esses resultados, sugerindo a importância de mais estudos concernentes a esses achados.

poderiam estar associadas a diferenças nas concentrações hormonais, entretanto, estes fatores não foram analisados no presente estudo.

Yorita e Christensen (2007) observaram associações significativas entre valores mais baixos de hormônios tireoidianos e as concentrações de Hg mais elevadas no sangue, ou na urina. Entretanto, esta pesquisa difere do presente estudo por envolverem amostras populacionais maiores.

Em relação ao T3R, observou-se que diferença entre as médias das concentrações hormonais foi próxima do nível de significância do teste ($p = 0,06$).

O T3R é originado a partir da remoção de um átomo de iodo, do anel interno do T4, por ação da desiodase tipo 3. A remoção do iodo inativa o hormônio T4, fazendo a sua conversão em T3R. Este mecanismo de regulação, é necessário para proteger os tecidos, e especialmente o cérebro, de concentrações excessivas de hormônios tireoidianos (Kaplan, 1984; Hernadenz e Stohn, 2018).

A tireoide produz maiores quantidades de T4 e nos tecidos, por ação da desiodases, ocorre a conversão do T4 em T3, ou em T3R (Hernadenz e Stohn, 2018).

A ação do mercúrio sobre as desiodases pode levar à redução da conversão do T4 em T3, com consequente elevação do T3R (Ellingsen et al., 2000).

Ellingsen et al. (2000) observaram um aumento significativo das concentrações de T3R entre os trabalhadores expostos ao Hg. A elevação hormonal foi significativamente associada às concentrações cumulativas de Hg urinário ($p < 0,01$).

No presente estudo, o coeficiente da correlação de Spearman mostrou uma relação inversa, significativa, entre as concentrações T3R e o Hg urinário ($p < 0,05$). No modelo de regressão logística múltipla, a concentração do Hg urinário mostrou um valor preditivo estatisticamente significativo para o T3R acima do terceiro quartil ($p = 0,044$).

Estes resultados corroboram a possibilidade de a tendência das concentrações T3R ser mais elevada em expostos, isto é, acima do terceiro quartil, estar relacionada aos efeitos do Hg.

A média das concentrações de TSH mais elevada em expostos ao Hg foi um dos principais achados deste estudo. A proporção de indivíduos com concentrações de TSH acima do limite de normalidade também foi significativamente maior no grupo exposto

($p = 0,018$). Além destes achados, a correlação entre as concentrações de TSH e os valores de Hg urinário, agrupados, foi estatisticamente significativa ($p = 0,240$; $p < 0,05$).

Afrifa et al. (2018) observaram uma tendência à elevação das concentrações de TSH em mineradores de ouro, mas o aumento não foi estatisticamente significativo. Entretanto, todos os participantes do estudo estavam envolvidos na mineração, e foram agrupados de acordo com as concentrações de Hg.

O presente estudo foi realizado após cessar a exposição ao Hg, pressupondo-se que os efeitos tóxicos do metal podem ser tardios, devido a sua deposição na glândula por vários anos (Holmes et al., 2009).

Entre as principais causas de elevação do TSH estão as tireoidites autoimunes, em que autoanticorpos levam ao comprometimento dos folículos e alteração funcional da glândula, com consequente aumento do hormônio (Hofling et al., 2012; Caturegli et al., 2014). A presença de anticorpos circulantes, especialmente o ATPO, é considerada como o melhor marcador sorológico da doença (Caturegli et al., 2014). Atualmente, considera-se que a etiologia destas tireoidites envolva complexas interações entre fatores genéticos e exposições ambientais (Lee et al., 2015).

A proporção de anticorpos ATPO e ATG positivos, no presente estudo, não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Estudos em humanos mostraram resultados conflitantes sobre a relação entre o Hg metálico, presente em amálgama dentário, e a tireoidite autoimune (Crowe et al., 2017).

Ellingsen et al. (2000) encontraram níveis de AC ATPO mais baixos em expostos ao Hg.

Conforme mostrou a Tabela 10, os anticorpos (ATPO e ATG) não apresentaram razão de chances, estatisticamente significativa, para elevação do TSH no modelo de regressão logística múltipla.

Outra razão possível para elevação do TSH é a inibição enzimática das desidases pelo Hg, com consequente redução do T3L, em longo prazo, levando ao estímulo da hipófise para produção de TSH (Benvenga et al., 2015).

Não foi possível identificar, no presente estudo, a alteração da relação T4L:T3L, que poderia ser um indicador da inibição das desidases. Entretanto, as concentrações de T3R mostraram uma tendência a serem mais elevadas em expostos.

O efeito tóxico de metais e poluentes é muito complexo, podendo atingir a regulação hormonal no eixo hipotalâmico-hipofisário, na fase de síntese hormonal, no transporte, na conversão do T4 em T3 por desidases, ou por interferir na biodisponibilidade de micronutrientes como o selênio (Gore et al., 2015).

Tan et al. (2009) observaram a deposição do cloreto de mercúrio (HgCl_2) no hipotálamo e na hipófise de roedores que receberam o sal mercurial. Os autores discutem a possibilidade do HgCl_2 afetar o funcionamento do eixo endócrino. Em humanos, a hipófise e a tireoide podem acumular concentrações mais elevadas de Hg metálico, que o rim, ou o fígado (Falnoga et al., 2000). Os autores destacam que as exposições aos vapores de Hg podem ser um facilitador do transporte das cavidades nasais, diretamente para a hipófise, favorecendo a sua acumulação na glândula em humanos.

Sun et al. (2018) encontraram nos estudos realizados em *zebrafish*, tratados com HgCl_2 , em fase larval, um aumento significativo da expressão de RNA mensageiro (RNA m) da subunidade β do TSH, quando comparados aos controles. Os autores

consideram que o Hg pode ter um efeito disruptor sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário.

Outros estudos seriam necessários para compreender se estes mecanismos de toxicidade também estão presentes em humanos e se poderiam levar à alteração do TSH.

A longa duração da exposição ao Hg, observada neste estudo, pode favorecer a deposição do metal na glândula. A tireoide tem elevadas concentrações de selênio, por seu papel na constituição das desidases e na síntese de hormonal (Kohrle e Gartner, 2009). Sabe-se que o Hg tem alta afinidade pelo selênio, podendo formar ligações muito estáveis com as selenoenzimas, como as desidases, possibilitando a sua deposição na glândula (Soldim et al, 2008).

Não foram observadas alterações, estatisticamente significativas, das concentrações de selênio entre os indivíduos expostos e o grupo controle ($p=0,447$). Entretanto, os trabalhadores estavam afastados da exposição há vários. Mesmo quando as concentrações sanguíneas de selênio estão dentro do padrão de normalidade, não se pode descartar uma possível interação com o Hg, alterando a biodisponibilidade do micronutriente (Gore et al., 2015).

7.6 Características do parênquima e nódulos tireoidianos

O presente estudo, além da avaliação hormonal, incluiu a avaliação das características do parênquima tireoidiano e dos nódulos por meio do US com Doppler. O exame oferece elevada acurácia para avaliação morfológica da glândula, não é invasivo, e agrega a vantagem de custos não elevados (SOLBIAT et al., 2012).

Em estudos anteriores, não foram avaliadas as características do parênquima tireoidiano, ou possíveis alterações da glândula em indivíduos expostos ao Hg. Mesmo em estudos de necrópsia, dos mineradores expostos, não foram pesquisadas possíveis alterações estruturais, ou citológicas da glândula (Falnoga et al., 2000)

Entre os principais achados do estudo, observados por meio do US Doppler, está a maior proporção de alterações da ecogenicidade em expostos ao Hg, quando comparados aos controles ($p=0,026$). Observou-se também, que a média das concentrações de Hg urinário foram mais elevadas nos indivíduos com ecogenicidade do parênquima reduzida (Figura 8).

O aspecto de redução da ecogenicidade pode estar associado a processos inflamatórios, comumente observados em tireoidites autoimunes (Höfling et al, 2012). Contudo, não se observou no grupo exposto ao Hg uma correlação, estatisticamente significativa entre AC ATPO e o padrão de hipoecogenicidade ($p=0,119$).

Em quatro indivíduos expostos foram observadas características de tireoidite atrófica, e nenhum controle apresentou estas características.

Em estudos experimentais, Shi et al. (2018) observaram que a tireoide de anfíbios (*Bufo gargarizan*), tratada com $HgCl_2$, apresentou perdas das camadas de células foliculares, desarranjo celular e hiperplasia folicular da tireoide. Em doses acima de $18 \mu g/L$, houve deformação da glândula, redução das desidases e dos níveis de RNAm dos receptores hormonais α e β .

Outros estudos seriam necessários para investigar se a deposição do Hg pode levar a alterações morfológicas da glândula em humanos.

Em estudos de necropsia, envolvendo mineradores e profissionais de odontologia, foram observadas concentrações elevadas de Hg na tireoide (Nylander e Weiner (1991; Falnoga et al. 2000; Bjorkman et al., 2007).

Estes achados reforçam a importância da avaliação do parênquima tireoidiano, e de novos estudos para investigação se o Hg está associado a alterações histológicas da glândula e um possível comprometimento funcional da glândula.

Benvença et al. (2015) destacam a importância de avaliar a contribuição das exposições ocupacionais aos poluentes para o desenvolvimento de neoplasias da tireoide.

Neste estudo, a presença de nódulos tireoidianos, identificados pelo US, foi similar entre os grupos (15 expostos e 16 controles). A presença de câncer papilífero da tireoide foi observada em três expostos e um controle. Os três indivíduos expostos, que apresentaram câncer papilífero, exerceram a função de mecânico de manutenção, com exposição frequente ao Hg, por vários anos (13 a 25 anos). Contudo, não foi possível estabelecer uma associação entre a presença de nódulos malignos e a exposição ao Hg, pelo número reduzido de casos.

Chung et al. (2016) não observaram associação entre as concentrações do Hg e a presença nódulos malignos tireoidianos de pacientes que receberam tratamento cirúrgico. Contudo, Malandrino et al. (2016) relatam um aumento da incidência de câncer papilífero em moradores de regiões vulcânicas. Os autores observaram que as concentrações de metais, incluindo o Hg, estavam muito mais elevadas em moradores destas regiões. Os autores discutem a possibilidade de estes metais estarem relacionados ao aumento da incidência de câncer papilífero.

7.7 Limitações do estudo

As limitações do presente estudo foram relacionadas à obtenção dos exames toxicológicos, realizados durante a exposição laboral. Não foi possível obter a série histórica dos resultados, para avaliar possíveis oscilações da exposição. Como os exames foram realizados em laboratórios diferentes, não se conseguiu uma padronização das análises, bem como a correção dos valores de Hg pela creatinina urinária.

Apesar das limitações relacionadas à análise laboratorial, possivelmente as concentrações de Hg na urina não foram sobre-estimadas, considerando que as empresas realizam o monitoramento por determinação legal e, quando os valores de Hg ultrapassam o limite de tolerância, o trabalhador deve ser afastado da exposição e emitida a notificação aos Órgãos competentes.

Outra limitação da pesquisa, foi a ausência de informações sobre as concentrações do Hg no ambiente de trabalho. Contudo, a descrição das atividades laborais fornecidas pelos trabalhadores, permitiram identificar, que algumas empresas não realizavam o monitoramento ambiental e biológico, conforme a regulamentação vigente. Além destes fatores, foram relatadas diversas situações que favoreciam a exposição dos trabalhadores, como os vazamentos de Hg no ambiente fabril, a não utilização de equipamento de proteção respiratória e escassez de medidas coletivas de proteção.

Além destas limitações, as análises das concentrações selênio e iodo foram realizadas após cessar a exposição laboral ao Hg, por vários anos.

8. CONCLUSÕES

8 CONCLUSÕES

- Observou-se neste estudo que os trabalhadores tiveram exposições prolongadas ao Hg;
- As concentrações de Hg urinário foram elevadas, especialmente nas funções de mecânico, operador de máquina de bombear e líder de produção;
- A frequência de sintomas e sinais, sugestivos de intoxicação crônica, foi significativamente mais elevada em expostos ao Hg;
- A elevação das concentrações de TSH foi identificada com maior frequência em expostos;
- A exposição ao Hg mostrou uma razão de chances estatisticamente significativa para elevação do TSH;
- Em estudos anteriores, realizados em trabalhadores expostos ao Hg metálico, não foram encontradas alterações das concentrações de TSH;
- Não foram identificadas diferenças, estatisticamente significativas, entre os grupos, em relação à proporção de anticorpos (ATPO e ATG), que são marcadores sensíveis para tireoidite de Hashimoto;
- Não se identificou alteração da relação T4L:T3L, como outros autores observaram;
- Não foi observado aumento, estatisticamente significativo, das concentrações de T3R, entretanto, houve uma razão de chances, estatisticamente significativa, para o hormônio estar acima do terceiro quartil em expostos ao Hg, observou-se também uma correlação positiva entre as concentrações de Hg e T3R;
- O padrão de ecogenicidade reduzida do parênquima tireoidiano foi mais frequente em expostos, sem uma correlação com anticorpos anti-tireoidianos;
- Os achados do presente estudo, e o conhecimento sobre o acúmulo do Hg na glândula tireoidiana, indicam a importância da avaliação da função tireoidiana em trabalhadores expostos ao Hg, mesmo depois de cessar a exposição;
- A adoção de medidas de controle no ambiente de trabalho, bem como a realização de estudos para revisão dos limites de tolerância vigentes na legislação brasileira, são procedimentos relevantes para redução das exposições dos trabalhadores e prevenção de efeitos tóxicos à saúde.

9. REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

1. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Mercury, Elemental. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Edition, ACGIH®, Cincinnati, Ohio. Copyright 2013.
2. Afrifa J, Ogbordjor WD, Duku-Takyi R. Variation in thyroid hormone levels is associated with elevated blood mercury levels among artisanal small-scale miners in Ghana. *Plos One*. 2018;13(8).
3. Amorim LCA. O uso dos biomarcadores na avaliação da exposição ocupacional a substâncias químicas. *Rev Bras Med Trab*. 2003; 1(2): 124 - 32.
4. Asano S, Eto K, Kurisaki E, Gunji H, Hiraiwa K, Sato M, Sato H, Hasuike M, Hagiwara N, Wakasa H. Acute inorganic mercury vapor inhalation poisoning. *Pathology International*. 2000; 50: 169–174
5. Babor TF, Hofmann M, Del Boca FK, Hesselbrock V, Meyer RE, Dolinsky ZS, et al. Types of alcoholics, I: evidence for an empirically derived typology based on indicators of vulnerability and severity. *Arch Gen Psychiatry*. 1992; 49:599-08.
6. Barregård L, Lindstedt G, Schütz A, Sällsten G. Endocrine function in mercury exposed chloralkali workers. *Occup Environ Med*. 1994;51(8):536-40.
7. Baumgartner C, Blum MR, Rodondi N. Subclinical hypothyroidism: summary of evidence in 2014. *Swiss Medical Weekly*. 2014;144.
8. Beate L, Stephan BO, Gustav D. Proposal for a revised reference concentration (RfC) for mercury vapour in adults. *Sci Total Environ*. 2010;408(17):3530-5.
9. Benvenga S, Antonelli A, Vita R. Thyroid nodules and thyroid autoimmunity in the context of environmental pollution. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16(4):319-40.
10. Berlin M, Fazackerley J, Nordberg G. The uptake of mercury in the brains of mammals exposed to mercury vapor and to mercuric salts. *Arch Environ Health*. 1969;18(5):719-29.
11. Bernhoft RA. Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *J Environ Public Health*. 2012; 2012:460508.

12. Björkman L, Lundekvam BF, Laegreid T, Bertelsen BI, Morild I, Lilleng P, et al. Mercury in human brain, blood, muscle and toenails in relation to exposure: an autopsy study. *Environ Health*. 2007;6:30.
13. Bose-O'Reilly S, Bernaudat L, Siebert U, Roider G, Nowak D, Drasch G. SIGNS AND SYMPTOMS OF MERCURY-EXPOSED GOLD MINERS. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2017;30(2):249-69.
14. BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora Nº. 15 - Atividades e operações insalubres, Anexo Nº 13. Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego. 1978.
15. BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora Nº. 7- Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional – PCMSO. Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego. 1994.
16. Bulato C, Bosello V, Ursini F, Maiorino M. Effect of mercury on selenium utilization and selenoperoxidase activity in LNCaP cells. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(1):118-23.
17. Câmara, V. et al. Methodology to prevent mercury exposure among adolescents from goldmine areas in Mariana, state of Minas Gerais, Brazil. *Cad Saúde Publica*. 1996. v12, n. 2, p. 149-158.
18. Chammas MC, Gerhard R, de Oliveira IR, Widman A, de Barros N, Durazzo M, et al. Thyroid nodules: evaluation with power Doppler and duplex Doppler ultrasound. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;132(6):874-82.
19. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*. 2014;13(4-5):391-7.
20. Carvalho GA, Perez CL, Ward LS. The clinical use of thyroid function tests. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2013;57(3):193-204.
21. Choi AL, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Steuerwald U, Debes F, Weihe P, et al. Selenium as a potential protective factor against mercury developmental neurotoxicity. *Environ Res*. 2008;107(1):45-52.
22. Chung HK, Nam JS, Ahn CW, Lee YS, Kim KR. Some Elements in Thyroid Tissue are Associated with More Advanced Stage of Thyroid Cancer in Korean Women. *Biological Trace Element Research*. 2016;171(1):54-62.

23. Cibas ES, Ali SZ. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. *Thyroid*. 2009;19(11):1159-65.
24. Clarkson TW. The toxicology of mercury. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1997;34(4):369-403.
25. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol*. 2006;36(8):609-62.
26. Cordeiro Q, de Araújo Medrado Faria M, Fráguas R. Depression, insomnia, and memory loss in a patient with chronic intoxication by inorganic mercury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2003;15(4):457-8.
27. Doering S, Bose-O'Reilly S, Berger U. Essential Indicators Identifying Chronic Inorganic Mercury Intoxication: Pooled Analysis across Multiple Cross-Sectional Studies. *PLoS One*. 2016;11(8):e0160323.
28. Ehrenberg RL, Vogt RL, Smith AB, Brondum J, Brightwell WS, Hudson PJ, et al. Effects of elemental mercury exposure at a thermometer plant. *American Journal of Industrial Medicine*. 1991;19(4):495-507.
29. Ellingsen DG, Efskind J, Haug E, Thomassen Y, Martinsen I, Gaarder PI. Effects of low mercury vapour exposure on the thyroid function in chloralkali workers. *J Appl Toxicol*. 2000;20(6):483-9.
30. Fagala GE, Wigg CL. Psychiatric manifestations of mercury poisoning. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1992;31(2):306-11.
31. Falnoga, I., Tusek-Znidaric, M., Horvat, M., and Stegnar, P. Mercury, selenium, and cadmium in human autopsy samples from Idrija residents and mercury mine workers. *Environ. Res*. 2000;84(3):211–218.
32. Falnoga I, Tusek-Znidaric M, Stegnar P. The influence of long-term mercury exposure on selenium availability in tissues: an evaluation of data. *Biometals*. 2006;19(3):283-94.
33. Faria-Medrado M. Mercuralismo metálico crônico ocupacional. *Rev Saúde Publ*. 2003; 37(1).
34. Florea AM, Büsselberg D. Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds. *Biometals*. 2006 Aug;19(4):419-27.
35. Gattineni J, Weiser S, Becker AM, Baum M. Mercury intoxication: Lack of correlation between symptoms and levels. *Clinical Pediatrics*. 2007;46(9):844-6.

36. Craig, RG.;O'Brian, MJ; Powers,JM. Materiais dentários. In Propriedades dos Materiais Dentários. Editora Guanabara Koogan; 10ª edição, 1998.
37. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, et al. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr Rev.* 2015;36(6):E1-E150.
38. Guzzi G, Grandi M, Cattaneo C, Calza S, Minoia C, Ronchi A, et al. Dental amalgam and mercury levels in autopsy tissues: food for thought. *Am J Forensic Med Pathol.* 2006;27(1):42-5.
39. Hänninen H. Behavioral effects of occupational exposure to mercury and lead. *Acta Neurol Scand Suppl.* 1982;92:167-75.
40. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid.* 2016 Jan;26(1):1-133.
41. Hernandez A, Stohn JP. The Type 3 Deiodinase: Epigenetic Control of Brain Thyroid Hormone Action and Neurological Function. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6).
42. Höfling DB, Chavantes MC, Juliano AG, Cerri GG, Knobel M, Yoshimura EM, et al. Assessment of the effects of low-level laser therapy on the thyroid vascularization of patients with autoimmune hypothyroidism by color Doppler ultrasound. *ISRN Endocrinol.* 2012; 2012:126720.
43. Holmes P, James KA, Levy LS. Is low-level environmental mercury exposure of concern to human health? *Sci Total Environ.* 2009;408(2):171-82.
44. Iavicoli I, Fontana L, Bergamaschi A. The effects of metals as endocrine disruptors. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009;12(3):206-236
45. Kade IJ. Mercury toxicity on sodium pump and organoseleniums intervention: a paradox. *J Biomed Biotechnol.* 2012; 2012:924549.
46. Kark RAP. Clinical and neurochemical aspects of inorganic mercury intoxication. *Handbook of clinical Neurology.* In: Intoxications in the Nervous sistem. Part I. Wolf FA editor. 1994: 367- 429
47. Kaplan MM. The role of thyroid hormone deiodination in the regulation of hypothalamo-pituitary function. *Neuroendocrinology.* 1984;38(3):254-60.

48. Kosta L, Byrne AR, Zelenko V. Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. *Nature*. 1975;254(5497):238-9.
49. Köhrle J, Gärtner R. Selenium and thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009;23(6):815-27.
49. Lacerda, DL. Contaminação por Hg no Brasil: fontes industriais versus garimpo de ouro. *Quim Nova*, vol. 20, n 2, Mar-Apr 1997.
50. Langford N, Ferner R. Toxicity of mercury. *J Hum Hypertens*. 1999;13(10):651-6.
51. Lee HJ, Li CW, Hammerstad SS, Stefan M, Tomer Y. Immunogenetics of autoimmune thyroid diseases: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2015;64:82-90.
52. Llop S, Lopez-Espinosa MJ, Murcia M, Alvarez-Pedrerol M, Vioque J, Aguinagalde X, et al. Synergism between exposure to mercury and use of iodine supplements on thyroid hormones in pregnant women. *Environ Res*. 2015;138:298-305.
53. Malandrino P, Russo M, Ronchi A, Minoia C, Cataldo D, Regalbuto C, et al. Increased thyroid cancer incidence in a basaltic volcanic area is associated with non-anthropogenic pollution and biocontamination. *Endocrine*. 2016;53(2):471-9.
54. Moen, B.; Hollund, B.; Riise, T. Neurological symptoms among dental assistants: a cross-sectional study. *J Occup Med Toxicol*, v. 3, p. 10, 2008.
55. Møller-Madsen, B. Localization of mercury in CNS of the rat. An autometallographic study. *Pharmacol Toxicol*, v. 75 Suppl 1, p. 1-41, 1994.
56. Mori K, Yoshida K, Nakagawa Y, Hoshikawa S, Ozaki H, Ito S, et al. Methylmercury inhibition of type II 5'-deiodinase activity resulting in a decrease in growth hormone production in GH3 cells. *Toxicology*. 2007;237(1-3):203-9.
57. Mulder PJ, Lie E, Eggen GS, Ciesielski TM, Berg T, Skaare JU, et al. Mercury in molar excess of selenium interferes with thyroid hormone function in free-ranging freshwater fish. *Environ Sci Technol*. 2012;46(16):9027-37.
58. Neghab, M. et al. Symptoms of intoxication in dentists associated with exposure to low levels of mercury. *Ind Health*, v. 49, n. 2, p. 249-54, 2011.

59. Nylander M, Friberg L, Weiner J. Muscle biopsy as an indicator for predicting mercury concentrations in the brain. *Br J Ind Med*. 1990;47(8):575-6.
60. Nyrnes A, Jorde R, Sundsfjord J. Serum TSH is positively associated with BMI. *International Journal of Obesity*. 2006;30(1):100-5.
61. O'Carroll RE, Masterton G, Dougall N, Ebmeier KP, Goodwin GM. The neuropsychiatric sequelae of mercury poisoning. The Mad Hatter's disease revisited. *Br J Psychiatry*. 1995;167(1):95-8.
62. Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H. & Wagner, H. (2011) R package version 3.4.3.
63. Pantaleão TU, Ferreira ACF, Santos MCS, Figueiredo Á, Louzada RAN, Rosenthal D, et al. Effect of thimerosal on thyroid hormones metabolism in rats. *Endocr Connect*. 2017 Nov;6(8):741-7.
64. Park JD, Zheng W. Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J Prev Med Public Health*. 2012;45(6):344-52.
65. Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis. *N Engl J Med*. 2003;348(26):2646-55.
66. Pilhatsch M, Marxen M, Winter C, Smolka MN, Bauer M. Hypothyroidism and mood disorders: integrating novel insights from brain imaging techniques. *Thyroid Res*. 2011;4 Suppl 1:S3.
67. Phillips RW, *Materiais Dentários de Skinner*, 8ª Edição; 1984. Editora Interamericana S.P.
68. PNUMA, Programa das Nações Unidas sobre Meio Ambiente, seção de Químicos, DTI. Resumo das informações sobre Oferta, Comércio e Demanda de Hg, requerido pela Decisão 23/9 do Conselho Diretivo. Nov 2006.
69. Powell TJ. Chronic neurobehavioural effects of mercury poisoning on a group of Zulu chemical workers. *Brain Inj*. 2000;14(9):797-814.
70. Ramazzini B. *As doenças dos Trabalhadores*. Tradução de Raimundo Estrêla. – 4. ed. São Paulo: Fundacentro, 2016
71. Rana SV. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals--a review. *Biol Trace Elem Res*. 2014;160(1):1-14.

72. Santos TS, Batista MC, Simone AP, Rossi LS. Análise da eficiência energética, ambiental e econômica entre lâmpadas de LED e convencionais. *Eng Sanit Ambient.* 2015; 20 (4): 595-602.
73. Sin YM, Teh WF, Wong MK, Reddy PK. Effect of mercury on glutathione and thyroid hormones. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1990 Apr;44(4):616-22.
74. Shi Q, Sun N, Kou H, Wang H, Zhao H. Chronic effects of mercury on *Bufo gargarizans* larvae: Thyroid disruption, liver damage, oxidative stress and lipid metabolism disorder. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018;164:500-9.
75. Solbiat L, Charboneau JW, Reading CC, James EM, Hay ID. A Glândula Tireoide in: Rumack CM, Wilson SR, Charboneau JW, Levine D. *Tratado de Ultrassonografia Diagnóstica.* 4ª ed. São Paulo: Elsevier; 2012 p. 708-749
76. Soldin OP, O'Mara DM, Aschner M. Thyroid hormones and methylmercury toxicity. *Biol Trace Elem Res.* 2008;126(1-3):1-12.
77. Stonehouse, C. A.; Newman, A. P. Mercury vapour release from a dental aspirator. *Br Dent J*, v. 190, n. 10, p. 558-60, May 2001.
78. Sun YL, Li YW, Liu ZH, Chen QL. Environmentally relevant concentrations of mercury exposure alter thyroid hormone levels and gene expression in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis of zebrafish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry.* 2018;44(4):1175-83.
79. Surks MI, Hollowell JG. Age-specific distribution of serum thyrotropin and antithyroid antibodies in the US population: Implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2007;92(12):4575-82.
80. Takser L, Mergler D, Baldwin M, de Grosbois S, Smargiassi A, Lafond J. Thyroid hormones in pregnancy in relation to environmental exposure to organochlorine compounds and mercury. *Environ Health Perspect.* 2005;113(8):1039-45.
81. Tan SW, Meiller JC, Mahaffey KR. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(3):228-69.
82. Tessler FN, Middleton WD, Grant EG, Hoang JK, Berland LL, Teefey SA, et al. ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TI-RADS): White Paper of the ACR TI-RADS Committee. *J Am Coll Radiol.* 2017 May;14(5):587-95.

83. Tirado V, García MA, Moreno J, Galeano LM, Lopera F, Franco A. Alteraciones neuropsicológicas por exposición ocupacional a vapores de mercurio en El Bagre (Antioquia, Colombia). *Rev Neurol*. 2000 Out;31(8):712-6.
84. Tsuji JS, Williams PR, Edwards MR, Allamneni KP, Kelsh MA, Paustenbach DJ, et al. Evaluation of mercury in urine as an indicator of exposure to low levels of mercury vapor. *Environ Health Perspect*. 2003;111(4):623-30.
85. Ursinyova M, Uhnakova I, Serbin R, Masanova V, Husekova Z, Wsolova L. The relation between human exposure to mercury and thyroid hormone status. *Biol Trace Elem Res*. 2012;148(3):281-91.
86. WHO - World Health Organization. Elemental mercury and inorganic mercury compounds: Human health aspects. Geneve; 1991.
87. WHO - World Health Organization. Elemental mercury and inorganic mercury compounds: Human health aspects. Geneve; 2003.
88. Ye BJ, Kim BG, Jeon MJ, Kim SY, Kim HC, Jang TW, et al. Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*. 2016 Jan;28
89. Yorita Christensen KL. Metals in blood and urine, and thyroid function among adults in the United States 2007-2008. *Int J Hyg Environ Health*. 2012.
90. Zavariz C. Avaliação da utilização industrial de Hg metálico no estado de São Paulo e aplicação de metodologia de intervenção nas condições de trabalho [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 1994.
91. Zavariz C. Alterações à saúde produzidas pela exposição ao Hg metálico [dissertação de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 1999.
92. Zavariz C, Glina DMR. Effects of Occupational Exposure to Mercury in Workers at a Light Bulb Factory in Santo Amaro, São Paulo, Brazil. *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, 9 (2): 117-129, 1993.
93. Zhu X, Kusaka Y, Sato K, Zhang Q. The endocrine disruptive effects of mercury. *Environ Health Prev Med*. 2000;4(4):174-83.