UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Efeito da sazonalidade na exposição ao mercúrio e nos marcadores de
estresse oxidativo e de inflamação em populações ribeirinhas da
Amazônia

Juliana Valentini

Ribeirão Preto
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Efeito da sazonalidade na exposição ao mercúrio e nos marcadores de
estresse oxidativo e de inflamação em populações ribeirinhas da
Amazônia**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia
para a obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Juliana Valentini

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa
Junior**

Ribeirão Preto

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Valentini, Juliana

Efeito da sazonalidade na exposição ao mercúrio e nos marcadores de estresse oxidativo e de inflamação em populações ribeirinhas da Amazônia. Ribeirão Preto, 2012.
140 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP - Área de concentração: Toxicologia.

Orientador: Barbosa Junior, Fernando.

1. Amazônia 2. Mercúrio. 3. Sazonalidade. 4. Estresse Oxidativo.
5. Sistema Imune.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Juliana Valentini

Efeito da sazonalidade na exposição ao mercúrio e nos marcadores de estresse oxidativo e de inflamação em populações ribeirinhas da Amazônia

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia
para a obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de Concentração: Toxicologia

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Barbosa
Junior**

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho aos habitantes das comunidades do Lago Araipá, Nova Estrela e São Tomé, pelos conhecimentos além dos livros a mim transmitidos.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Barbosa Junior, por aceitar orientar esta tese e, pela sua dedicação, incentivo, entendimento e paciência ao longo do desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Programa de Pós Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) por oferecer a oportunidade e os meios para realização da presente pesquisa.

Ao Projeto PLUPH, pela oportunidade de participação e pela bolsa de estudos concedida.

Aos professores do Projeto PLUPH, em especial ao Prof. Dr. Carlos José Sousa Passos, pelo seu incentivo, dedicação e entendimento ao longo da realização deste trabalho. Também, especialmente agradeço ao Prof. Dr. Robert Davidson, o qual foi incansável na organização da logística dos trabalhos de campo desta pesquisa.

Aos colegas estudantes do projeto PLUPH, em especial a Annie Béliveau, Benjamin Gregórie, Danieli Milléo, Deusilene Amaral, Fernando Braga, Geovania Araújo, Leandra Fatorelli, Lígia Valadão, Maria Berçot, Marion Quartier, Paula Durante e Sky Oestreicher pelo apoio, troca de experiências, amizade e carinho, ações indispensáveis para a realização deste trabalho.

À Leandra Fatorelli, que pela função de secretária do projeto PLUPH foi incansável nas questões burocráticas, financeiras e de logística para a realização desta pesquisa.

As Secretarias de Saúde estaduais e municipais de Aveiro, Santarém e Itaituba pelo apoio dispensado. Em especial, a enfermeira Alessandra e aos técnicos de enfermagem Márcia e Natanael.

À EMBRAPA de Santarém, especialmente ao Prof. Cosme que sempre nos apoiou com suporte de materiais e espaço físico para a realização deste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Toxicologia e Essencialidade dos Metais da FCFRP, em especial à Denise Grotto, Juliana Nunes, Jairo Lisboa e Vanessa Oliveira pelo suporte técnico e emocional.

A todos os integrantes do Laboratório de Toxicologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial a Prof (a). Dr(a). Solange Cristina Garcia, co-orientadora desta pesquisa, por conceder o espaço, a atenção, o incentivo e os meios para a realização de parte deste trabalho.

Às secretárias do Programa de Pós Graduação em Toxicologia da FCFRP, Ana, Rosana e Rosemary, pela atenção prestada.

Aos meus pais, Maria Irani e Eldi Antônio, pelo apoio incondicional ao longo da minha vida estudantil.

Aos órgãos financiadores do Projeto PLUPH, o qual foi realizado com o apoio da Iniciativa de Pesquisa em Saúde Mundial, uma associação dedicada ao financiamento de pesquisas entre os Institutos Canadenses de Pesquisa em Saúde, a Agência Canadense para o Desenvolvimento Internacional, o Ministério de Saúde do Canadá, o Centro Internacional de Pesquisas para o Desenvolvimento e a Agência de Saúde Pública do Canadá.

Aos órgãos de financiadores nacionais, FAPESP, CNPq e CAPES.

Enfim, a todos, que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

“O conhecimento existe de duas formas – sem vida, armazenado em livros, e vivo na consciência dos homens. A segunda forma de existência é, afinal, a forma essencial: a primeira, por mais indispensável que seja, ocupa apenas uma posição inferior.”

Albert Einstein

RESUMO

VALENTINI, J. **Efeito da sazonalidade na exposição ao mercúrio e nos marcadores de estresse oxidativo e de inflamação em populações ribeirinhas da Amazônia.** 140 fl. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

O mercúrio (Hg), na forma química de metilmercúrio (MeHg) é considerado um dos contaminantes ambientais mais nocivos à saúde humana e ao ambiente, podendo provocar efeitos adversos diversos. A exposição ocorre principalmente pelo consumo de peixes contaminados e é freqüente em populações ribeirinhas da Amazônia Brasileira, incluindo o médio Tapajós. Um dos principais efeitos tóxicos associados à exposição ao MeHg é o estresse oxidativo. Também tem sido relatada a indução do processo inflamatório. Entretanto, a dieta pode modificar consideravelmente os efeitos tóxicos decorrentes da exposição ao MeHg. Além disso, na Região Amazônica a sazonalidade é importante na oferta de alimentos, podendo assim, influenciar nos efeitos da exposição ao Hg, pela diferente oferta de micronutrientes que minimizariam os efeitos após a exposição. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo o de avaliar, em diferentes estações do ano e comunidades ribeirinhas amazônicas, características sociais e demográficas, a exposição ao MeHg, o status de metais essenciais (Cu, Mn, Se e Zn), carotenóides (β -caroteno e licopeno) e vitaminas (A e E) no organismo; bem como os biomarcadores do estresse oxidativo GSH, atividade das enzimas antioxidantes (CAT, GSH-Px e SOD), concentração de MDA, atividade e reativação da ALA-D e marcadores de inflamação (PCRus e as interleucinas 6 e 10). Foi observado que a sazonalidade e a localização da comunidade influenciavam na exposição ao MeHg, no teor de micronutrientes e nos marcadores do estresse oxidativo. A exposição ao MeHg também esteve associada ao aumento da GSH-Px, do MDA e reativação da ALA-D, bem como a diminuição da atividade da ALA-D. Cabe também ressaltar que um aumento da PCRus e expressão das ILs 6 e 10 também se correlacionaram com a exposição ao MeHg. No entanto, para alguns micronutrientes os teores em sangue foram dependentes de fatores sócio-demográficos. Finalmente, observou-se que a dieta é um importante preditor para os biomarcadores do estresse oxidativo GSH, GSH-Px, MDA e ALA-D nos indivíduos expostos ao MeHg. No entanto, dentre os marcadores inflamatórios avaliados somente a IL-10 foi influenciada pelo status nutricional.

Palavras-chave: Amazônia; mercúrio; sazonalidade; estresse oxidativo; sistema imune.

ABSTRACT

VALENTINI, J. **Effect of seasonality on mercury exposure, oxidative stress and inflammatory markers in riparian populations from the Amazon** 2012. 140 fl. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Methylmercury (MeHg) is a well-known environmental contaminant and it may cause severe adverse effects to human health. The exposure to this organic form of mercury occurs mainly through consumption of contaminated fish and this source of exposure is common in riparian communities of the Brazilian Amazon, including the Middle Tapajós. One of the main toxic effects related to MeHg exposure is the oxidative stress. MeHg exposure has also been reported to induce inflammatory response. However, components of diet can modify the toxic effects after MeHg exposure. Moreover, seasonality in the Amazon region is an important factor in food availability and it may also influence the effects of the Hg exposure depending on different populations. Therefore, this study aimed to evaluate, in different seasons and Amazonian riverside communities, social and demographic characteristics, exposure to MeHg, the status of essential metals (Cu, Mn, Se and Zn), carotenoids (β - carotene and lycopene) and vitamins (A and E) in the body as well as biomarkers of oxidative stress GSH, antioxidant enzymes (CAT, GSH-Px and SOD), MDA concentration, activity and reactivation of ALA-D and markers of inflammation (CRPs and interleukins 6 and 10). The seasonality and community location influenced on the MeHg exposure, micronutrients content and oxidative stress biomarkers. MeHg exposure was also associated with increased GSH-Px, MDA and ALA-D reactivation as well as the decrease on ALA-D activity. The elevations of the CRPs and interleukins expression were also associated with MeHg exposure. For some micronutrients their levels in blood were dependent on socio-demographic factors. Finally, we found that diet is an important predictor for oxidative stress biomarkers GSH, GSH-Px, MDA and ALA-D in the individuals exposed to MeHg. However, among the inflammatory markers here evaluated only IL-10 was influenced by nutritional status.

Keywords: Amazon; Mercury; Seasonality; Oxidative Stress; Immune System.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Interconversão da glutathione nas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG)	12
Figura 2. Sincronia de ação das enzimas antioxidantes (CAT, GSH-Px e SOD) e a GSH	13
Figura 3. Principais carotenóides encontrados no plasma	28
Figura 4. A Região de estudo	32
Figura 5. Imagens fotográficas da comunidade do Lago Araipá.....	33
Figura 6. Imagens fotográficas da comunidade de Nova Estrela	36
Figura 7. Imagens fotográficas da comunidade de São Tomé	37
Figura 8. Imagens fotográficas da abordagem participativa junto aos comunitários.....	40
Figura 9 (A-B). Ocupação profissional dos participantes do estudo nas estações cheia e seca	53
Figura 10. Comportamento sazonal do Hg-S em cada comunidade	54
Figura 11 (A-D). Comportamento sazonal dos metais essenciais em cada comunidade.....	59
Figura 12 (A-D). Comportamento sazonal dos carotenóides e vitaminas em cada comunidade.....	61
Figura 13 (A-G). Comportamento sazonal dos biomarcadores do estresse oxidativo em cada comunidade	68
Figura 14 (A-C). Comportamento sazonal dos marcadores inflamatórios em cada comunidade.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Representação do total de habitantes por faixa etária na comunidade do Lago Araipá	34
Tabela 2 - Escolaridade dos moradores do Lago Araipá	34
Tabela 3 - Representação do total de habitantes por faixa etária na comunidade de Nova Estrela	36
Tabela 4 - Escolaridade dos moradores de Nova Estrela	37
Tabela 5 - Representação do total de habitantes por faixa etária na comunidade de São Tomé.....	38
Tabela 6 - Escolaridade dos moradores de São Tomé.....	39
Tabela 7 - Dados sócio-demográficos da população amostrada nas duas estações	51
Tabela 8 - Comportamento do Hg-S em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos.....	55
Tabela 9 - Dados descritivos e comparação de médias (entre as estações cheia e seca) dos metais essenciais, carotenóides e vitaminas	56
Tabela 10 - Comportamento dos metais essenciais em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos	64
Tabela 11 - Comportamento dos carotenóides e vitaminas em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos	65
Tabela 12 - Dados descritivos e comparação de médias (entre as estações cheia e seca) dos biomarcadores do estresse oxidativo.....	67
Tabela 13 - Comportamento dos biomarcadores do estresse oxidativo em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos	73
Tabela 14 - Correlações de Spearman entre biomarcadores do estresse oxidativo com Hg-S e variáveis sócio-demográficas categóricas	75
Tabela 15 - Correlações de Spearman entre os biomarcadores do estresse oxidativo metais essenciais, carotenóides e vitaminas	76

Tabela 16 - Resultados das Análises de Regressão Múltipla para os biomarcadores do estresse oxidativo em relação ao Hg-S	79
Tabela 17 - Dados descritivos e comparação de médias (entre as estações cheia e seca) dos marcadores inflamatórios.....	81
Tabela 18 - Dados descritivos e comparação de médias (entre as estações cheia e seca) do Hg-S, biomarcadores do estresse oxidativo e micronutrientes e entre os participantes que expressavam a IL-10 e os participantes que não a expressaram a IL-10	84
Tabela 19 - Dados descritivos e comparação de médias (entre as estações cheia e seca) do Hg-S, biomarcadores do estresse oxidativo e micronutrientes e entre os participantes que expressavam a IL-6 e os participantes que não a expressaram a IL-6	85
Tabela 20 - Correlações de Spearman entre os marcadores inflamatórios e os micronutrientes.....	86
Tabela 21 - Correlação de Spearman entre os marcadores inflamatórios e biomarcadores do estresse oxidativo	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	Anticorpo
Ag	Antígeno
ALA-D	Ácido Aminolevulínico Desidratase
BHT	Butilhidroxitolueno
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT	Catalase
CBA	Consumidor de Bebida Alcoólica
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Cys	Cisteína
DCV	Doenças Cardiovasculares
DMPS	Sulfonado de Dimercaptopropano
DMSA	Ácido 2,3 - Dimercaptosuccínico
DTNB	Ácido Dinitrobenzóico
DTT	Ditiotreitol
ELISA	Teste imunoenzimático
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ERNs	Espécies Reativas do Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas do Oxigênio
EtHg	Etilmercúrio
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de São Paulo
FCFRP	Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

FIOCRUZ	Fundação Osvaldo Cruz
GSH	Glutathiona Reduzida
GSH-PX	Glutathiona Peroxidase
GSSG	Glutathiona Oxidada
GR	Glutathiona Redutase
Hb.	Hemoglobina
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
Hg-P	Mercúrio Plasmático
Hg-S	Mercúrio Sanguíneo
Ht	Hematócrito
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
INF	Interferon
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MDA	Malondialdeído
MeHg	Metilmercúrio
MT	Metalotioneínas
NADPH	Ácido Nicotinamínico Difosfato
NCBA	Não Consumidor de Bebida Alcoólica
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pará
PBS	Tampão Fosfato de Salino
PCR	Proteína C Reativa
PCRus	Proteína C Reativa por Método Ultra Sensível
PGs	Prostaglandinas

RL	Radicais Livres
-SH	Grupos tiólicos
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Dismutase
SODCuZn	Superóxido Dismutase Dependente de Cobre e Zinco
SODMn	Superóxido Dismutase Dependente de Manganês
TCA	Ácido Tricloroacético
TGI	Trato Gastrointestinal
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UnB	Universidade de Brasília
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USP	Universidade de São Paulo
UV/VIS	Ultra Violeta Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

H_3PO_4	Ácido Fosfórico
HNO_3	Ácido Nítrico
α	Alfa
$\bullet\text{O}_2^-$	Ânion Superóxido
β	Beta
Cu	Cobre
r	Coeficiente de Correlação
R^2	Coeficiente de Regressão
δ	Delta
NaOH	Hidróxido de Sódio
k	Kappa
Km	Quilômetro
Km^2	Quilômetro ao quadrado
L	Litro
$\pm$	Mais ou Menos
$>$	Maior
$\geq$	Maior ou Igual
Mn	Manganês
$<$	Menor
$\leq$	Menor ou Igual
Hg	Mercúrio
Hg^0	Mercúrio Elementar
Hg^{2+}	Mercúrio Inorgânico

μM	Micromolar
μg	Micrograma
mg	Miligrama
mL	Mililitro
®	Marca Registrada
nm	Nanômetro
NO	Óxido Nítrico
$^1\text{O}_2$	Oxigênio Singlete
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
pg	Picograma
%	Porcentagem
Se	Selênio
Zn	Zinco

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract.....	ii
Lista de Figuras.....	iii
Lista de Tabelas	iv
Lista de Abreviaturas e Siglas	vi
Lista de Símbolos.....	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 A Amazônia Brasileira	1
1.2 Amazônia no estado do Pará	3
1.3 O mercúrio (Hg) na região Amazônica Brasileira	5
1.4 Toxicocinética e Toxicodinâmica do Hg	6
1.5 Estresse Oxidativo e MeHg	10
1.6 O sistema imune	14
1.6.1 O sistema imune e a exposição ao Hg	17
1.7 As controvérsias nos estudos dos efeitos tóxicos após exposição ao Hg	19
1.8 Fatores nutricionais podem afetar os efeitos tóxicos do mercúrio	21
1.8.1 Cobre (Cu).....	22
1.8.2 Manganês (Mn)	23
1.8.3 Selênio (Se).....	25
1.8.4 Zinco (Zn)	25
1.8.5 Vitaminas A e E	26
1.8.6 Carotenóides	27
2. OBJETIVOS.....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 As comunidades ribeirinhas participantes da pesquisa	31
3.1.1 Lago Araipá	32
3.1.2 Nova Estrela.....	35
3.1.3 São Tomé.....	37
3.1.4 População de estudo.....	40
3.2 Separação e tratamento das amostras de sangue	42
3.3 Reagentes e soluções utilizadas para as análises quantitativas do sangue	42

3.4 Determinação do Hg-S	43
3.5 Determinação do hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb)	43
3.6 Determinação dos biomarcadores sanguíneos de estresse oxidativo.....	43
3.6.1 Quantificação da GSH.....	43
3.6.2 Atividade da CAT	44
3.6.3 Atividade da GSH-Px.....	44
3.6.4 Atividade da SOD	44
3.6.5 Quantificação do MDA.....	44
3.6.6 Atividade e reativação da ALA-D.....	45
3.7 Avaliação dos marcadores inflamatórios e anti-inflamatórios.....	45
3.7.1 Quantificação da PCRus	45
3.7.2 Quantificação das ILs	46
3.8 Quantificação dos metais essenciais	46
3.9 Quantificação dos carotenóides e vitaminas	46
3.10 Análise Estatística	47
4. RESULTADOS.....	48
4.1 Resultados referentes aos dados sócio-demográficos	48
4.2 Resultados referentes à exposição ao Hg em sangue (Hg-S).....	53
4.3 Resultados referentes aos metais essenciais, carotenóides e vitaminas no sangue dos voluntários	55
4.4 Resultados referentes aos biomarcadores de estresse oxidativo	66
4.5 Resultados referentes aos marcadores inflamatórios	80
5. DISCUSSÃO	89
6. CONCLUSÕES	110
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
9. ANEXOS	140
Anexo 9.1 Aprovação do CEP da FCFRP-USP	140

1. INTRODUÇÃO

1.1 A Amazônia Brasileira

Em qualquer estudo sobre essa região brasileira é interessante recorrer às definições geográficas e políticas acerca do que é a Amazônia no âmbito nacional. A Amazônia Brasileira pode ser dividida sob duas óticas diferentes, a região geopolítica amazônica e o ecossistema amazônico. A primeira designação, delimitada pelo governo em 1966, engloba cerca de cinco milhões de quilômetros quadrados (4.978.247 Km²), uma superfície que abrange 58,4% da área total do Brasil. Essa superfície que compõe a Amazônia Legal inclui todas as formações florestais que constituem a grande floresta equatorial (florestas de várzea e igapó, florestas de terra firme e floresta semi-úmida), além de incluir em seu espaço, particularmente no sul do Maranhão e centro sul do Mato Grosso, uma área de transição para caatinga e cerrado, onde floresce todo tipo de vegetação de transição. Assim, a Amazônia Legal compreende, total ou parcialmente, os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins (BRASIL, 2004).

Já, o ecossistema ou bioma da Amazônia é uma interpretação ecológica, que considera apenas o espaço com formação florestal e seus ecossistemas, o qual compreende uma área de 4,1 milhões de quilômetros quadrados da área brasileira, ou, 48% do território nacional.

A Amazônia é imperiosa pela sua biodiversidade, bem como pela regulação de importantes processos biológicos que ultrapassam sua dimensão territorial. Na direção diametralmente oposta, as queimadas da floresta contribuem com

significativa emissão de dióxido de carbono, contribuindo para o efeito estufa (HOUGHTON et al., 2000).

Do ponto de vista demográfico, esta região foi considerada por muito tempo como um grande vazio. Entretanto, uma das principais alterações do cenário amazônico nas últimas décadas do século XX diz respeito à demografia e aos fatores a ela associados (PAS, 2008). As políticas governamentais migratórias das décadas de 70 e 80, nascidas em pleno regime militar, ocasionaram o deslocamento de pessoas de diversas regiões do país em busca de melhores oportunidades de vida. Essas correntes migratórias fizeram com que, entre 1950 e 2010, a população da Amazônia passasse de 3,8 milhões para 25,6 milhões de habitantes (em torno de 12,83 % do total nacional), com crescimento de 574%, muito acima da média nacional, que foi de 254% no mesmo período (IBGE, 2010; PAS, 2008).

A população em questão ocupa principalmente a área urbana – 80 % das pessoas vivem nesses aglomerados – enquanto a área rural é populacionalmente rarefeita (0,5 habitantes/Km²). No que se refere à densidade demográfica, a média dessa na região manteve-se relativamente baixa em 2010 – 4,64 habitantes/Km² –, enquanto a do Brasil foi de 21,5 habitantes/Km² (PAS, 2008).

Embora a maioria da população regional seja urbana, a população rural de quase sete milhões de habitantes é também muito significativa enquanto mercado consumidor. Por outro lado, o atendimento direto de necessidades sociais básicas desse contingente populacional implica em custos financeiros elevados em função das grandes distâncias e dificuldades de acesso (PAS, 2008).

Atualmente, na região amazônica, acentuou-se a migração intra-regional, devido, principalmente, à exaustão de recursos naturais e à concentração fundiária em algumas regiões, assim como à abertura de novas frentes de expansão de

atividades agrárias, florestais, de exploração mineral e energética. O quadro atual é de um excedente populacional que se desloca em busca de inserção econômica e social. A esperança de encontrar emprego, educação e saúde são os fatores que geram os fluxos migratórios intra-regionais, onde novos corredores de povoamento se delineiam a partir do Mato Grosso: um, seguindo a rodovia BR-163 (Cuiabá-Santarém), em direção ao sudoeste do Pará, e outro em direção ao sudeste do Amazonas, sendo esse também objeto de intensos fluxos a partir de Rondônia (PAS, 2008).

1.2 Amazônia no estado do Pará

O estado do Pará apresenta uma população de 6.192 milhões de habitantes (BRASIL, 2010) e, com uma área de 1,25 milhões de Km², tamanho que torna essa unidade federativa a segunda maior do Brasil.

Aliadas ao tamanho territorial do Pará, as políticas pretéritas e atuais, que favoreceram (e/ou favorecem) a expansão da pecuária, projetos de assentamento e agricultura mecanizada sem, no entanto, preocupar-se com a racionalização da exploração florestal, são fatores que tornaram o Estado campeão de desmatamento no país, com uma perda da cobertura vegetal ao redor de 10% (BERÇOT, 2009).

Para tentar conter a problemática do desmatamento, tramitou no Congresso Nacional, o projeto para criar no Pará mais dois estados (Tapajós e Carajás). Os defensores do projeto, no Congresso Nacional, afirmavam que o estado é muito grande e que as diversas terras abandonadas são propícias para a ação de bandidos e grileiros. Por outro lado, a vertente contrária à separação alegou que, além do custo econômico elevado para a União, os problemas da região são devido

à infraestrutura precária, e não relacionados à dimensão do território. Alguns afirmam, inclusive, que os novos estados poderiam acelerar o desmatamento a fim de propiciar um aumento das receitas financeiras dos novos estados. A consulta popular, no final de 2011, foi majoritária pela não divisão.

Foi em uma região rural, mais precisamente no médio Tapajós, do oeste do Pará que a presente pesquisa se desenvolveu. A população rural desse local se distribui na forma de povoados, denominados regionalmente como comunidades. O termo comunidade designa um grupo de famílias que se reuniram ao longo do tempo, dando origem a um grupo social, o qual tem organização própria, como por exemplo, representantes políticos – presidente e vice-presidente – e outros cargos de importância como os de professor e agente de saúde (ALENCAR, 2002; GOMES, 2008).

Além disso, uma importante característica da região de estudo é a coexistência de diferentes culturas nas comunidades rurais, as quais se espalham às margens dos rios (comunidades ribeirinhas) e àquelas nas proximidades das estradas (comunidades de estrada). Algumas comunidades são majoritariamente integradas por famílias nativas do estado do Pará, ou da própria região do Rio Tapajós, e tal origem reflete na sua cultura. Outras comunidades foram constituídas nas últimas décadas, como resultado das políticas de ocupação e imigração da região, e trouxeram consigo as características culturais de suas regiões de origem (BERÇOT, 2009; FARELLA, 2005).

A presente pesquisa englobou as categorias de comunidades mencionadas e os resultados expostos são dados de caráter epidemiológico de habitantes dessas comunidades, os quais, em sua maioria, nunca realizaram uma análise sanguínea, fato que evidencia a necessidade de uma maior atenção à saúde nesses locais, independente de separar ou não o referido estado.

1.3 O mercúrio (Hg) na região Amazônica Brasileira

O mercúrio (Hg) é um dos contaminantes ambientais mais conhecidos, o qual pode provocar efeitos adversos severos à saúde humana. Os seres humanos podem ser expostos as diferentes formas mercuriais, como a elementar (Hg^0), as orgânicas - metilmercúrio (MeHg) e etilmercúrio (EtHg) - e a inorgânica (por exemplo, Hg^{2+}) (DÍEZ, 2009). O ambiente de trabalho e a dieta representam importantes fontes de exposição humana ao Hg^0 e MeHg, respectivamente (HIGHTOWER; MOORE, 2003).

A presença do Hg nos ecossistemas amazônicos brasileiros e a exposição humana a este poluente são objetos de muitas preocupações ao longo das últimas três décadas. Os teores elevados de Hg encontrados no meio ambiente foram inicialmente associados em grande parte às atividades de mineração do ouro e, em menor escala, às queimadas da floresta (BRANCHES et al., 1993; MALM et al., 1990; NRIAGU et al., 1992; VEIGA; MEECH; ONATE, 1994). Estudos posteriores mostraram a extensão da problemática, uma vez que concentrações elevadas de Hg em tecidos biológicos de peixes e humanos eram encontrados (GUIMARÃES et al., 1998).

Na sequência, pesquisas pioneiras realizadas na bacia do Rio Tapajós (Estado do Pará) mostraram que os solos amazônicos constituem importantes reservatórios naturais de Hg e uma parte significativa da contaminação mercurial dos ecossistemas aquáticos é causada pela erosão desses solos como consequência, por exemplo, do desmatamento para atividades agropecuárias insustentáveis (FARELLA et al., 2001; ROULET et al., 2000). Tais dinâmicas sociais e ambientais têm sido progressivamente confirmadas ao longo dos últimos anos em várias bacias hidrográficas da Amazônia, reforçando dessa maneira que o desmatamento e a erosão dos solos podem, de fato, provocar a contaminação

mercurial de diversos ecossistemas amazônicos (ALMEIDA et al., 2005; BASTOS et al., 2006; DÓREA et al., 2003; DÓREA; BARBOSA; SILVA, 2006; FARELLA et al., 2006; LACERDA; SOUZA; RIBEIRO, 2004; MAINVILLE et al., 2006).

Uma vez nos ecossistemas aquáticos, o Hg é então exposto a condições físico-químicas que favorecem taxas elevadas de metilação ou alquilação por microorganismos aquáticos. Tal reação química é de suma importância para a entrada do Hg na cadeia trófica e concomitante contaminação dos recursos alimentares aquáticos, principalmente peixes carnívoros (GUIMARÃES et al., 2000; ROULET et al., 2000). Em clima tropical, como a região amazônica, o maior potencial de alquilação é propiciado pelas raízes de macrófitas do que por outras matrizes aquáticas (COELHO-SOUZA; MIRANDA; GUIMARÃES, 2007; GUIMARÃES et al., 1998). Adicionalmente, na referida região é conhecido que no período das chuvas, compreendido entre os meses de janeiro a junho, a biomassa de macrófitas é maior, fato que favorece uma maior taxa de metilação do Hg nessa estação (COELHO-SOUZA; MIRANDA; GUIMARÃES, 2007; LEMIRE et al., 2009).

Independente das dinâmicas sociais e ambientais do Hg na região do presente estudo, uma vertente é unidirecional - a da elevada exposição humana ao metal (DOLBEC et al., 2001; DÓREA et al., 2005a, 2005b; GUIMARÃES et al., 1998; LEBEL et al., 1997; PINHEIRO et al., 2000, 2006).

1.4 Toxicocinética e Toxicodinâmica do Hg

A exposição do homem ao MeHg ocorre, principalmente, pela ingestão de peixes com altas concentrações desse metal. Foi assim que a doença de Minamata foi deflagrada. Tal doença ficou assim conhecida devido ao incidente na Baía de

Minamata, Japão, ocorrido na década de 50, onde centenas de pessoas morreram e outras milhares tiveram efeitos adversos à saúde, muitos dos quais irreversíveis (AKAGI et al., 1998; HARADA, 1995). O episódio em Minamata serviu para que um novo olhar fosse dado na toxicologia do Hg. No entanto, é importante elucidar que a primeira publicação em relação à toxicidade do MeHg data do século XVI (FARIA, 2003).

A mortalidade e morbidade observadas no Japão eram devido à exposição ao MeHg via alimentação. O metal era proveniente de uma indústria de polímeros, que usava mercúrio inorgânico como catalisador nos processos de polimerização. O Hg, após o uso, era descartado na água da baía ocasionando a sua distribuição nas cadeias tróficas desse ecossistema (AKAGI et al., 1998; HARADA, 1995).

Depois de ingerido a absorção do MeHg é eficientemente realizada pelo trato gastrointestinal (TGI). Concomitante a essa absorção, a circulação êntero-hepática, a qual é significativa para esse metal, pode também contribuir como um reservatório do mesmo, pois através dessa o metal pode ser reabsorvido. Ambas, as taxas de absorção e reabsorção proporcionam uma biodisponibilidade do composto ao redor de 95% (ATSDR, 1999; CLARKSON; MAGOS, 2006).

O volume de distribuição do Hg é elevado e os principais órgãos de acúmulo são os rins, o fígado e, por atravessar a barreira hematoencefálica, o cérebro. Esse processo de distribuição leva em torno de 30 horas (CLARKSON, 1997). Nos seres humanos, o MeHg tem uma meia-vida biológica relativamente longa e variável, dependendo, por exemplo, do órgão. No entanto, na circulação sistêmica a média de meia-vida biológica é de 50 dias - variando de 20 a 70 dias - enquanto 65 dias é o tempo relatado para o MeHg no cabelo, com variação de 35 a 100 dias. A

distribuição e meia-vida biológica elevados ocasionam uma eliminação corpórea lenta do MeHg (CLARKSON; MAGOS, 2006; DíEZ, 2009).

Nessa linha, é importante salientar que a ligação aos grupos sulfidrílicos (-SH) de constituintes biológicos é a principal, senão a única razão da fácil distribuição e posterior bioacumulação do MeHg nos órgãos alvo (CLARKSON, 2002).

Durante a distribuição, ao redor de 5 % do MeHg permanece no sangue, principalmente ligado a grupos -SH de proteínas eritrocitárias, o que ocasiona uma concentração em torno de 20 vezes mais elevada do mesmo nas hemácias em comparação ao plasma. Da mesma maneira, a afinidade por aminoácidos com grupos -SH (por exemplo, cisteína) é responsável pela elevada proporção, na ordem de 250/1 de MeHg no cabelo em relação ao sangue total. Dessa maneira, o sangue e o cabelo são os bioindicadores de exposição recomendados para avaliar a exposição ao metilmercúrio (NRC, 2000). O primeiro indica uma exposição recente (100-140 dias) enquanto o segundo reflete a exposição ao MeHg no sangue durante o crescimento do folículo capilar, ou seja, o período de exposição representado pelo Hg medido no cabelo é dependente do comprimento do mesmo.

Para a eliminação, a desmetilação pela microflora intestinal é fundamental. Nesse processo, a via renal representa 10 % ou menos do total de MeHg excluído do corpo (CLARKSON, 2002). No sentido diametralmente oposto, a circulação êntero-hepática, a qual essa forma do metal perfaz conjugado à glutathione reduzida (GSH) e como componente da bile, contribui para a principal via de eliminação - a fecal - onde o metal aparece na forma desalquilada, ou seja, a inorgânica. É importante salientar que a maior parte do metal que realiza o processo de recirculação junto à bile não sofre desmetilação pela microflora intestinal e, é reabsorvido, mantendo o ciclo (CLARKSON, 2002).

Em relação à toxicodinâmica, os efeitos nocivos do MeHg são particularmente notáveis nos rins e no sistema nervoso central (SNC). No primeiro, os principais efeitos consistem em danos no córtex renal e funções do túbulo renal, com probabilidade de insuficiência renal (KOJIMA; SHIMADA; KIYOZUMI, 1989; KOZMA et al., 1996). No segundo, os efeitos tóxicos são vários e incluem-se aí distúrbios na via autonômica, na divisão celular, nos neurônios sensoriais, entre outros. Consoantemente, os sintomas decorrentes da ação central são também diversos, tais como: distúrbios visuais, perda da audição, tremor muscular, distonias, demência, depressão, paralisia e até morte (CHEUNG; VERITY, 1983; CLARKSON, 2002). O MeHg, por ser permeável a barreira placentária, também é muito prejudicial para o desenvolvimento de embriões, uma vez que mães intoxicadas por MeHg geraram crianças com severos danos cerebrais, tais como paralisia cerebral, microcefalia e retardo mental (GRANDJEAN et al., 1998).

Adicionalmente, desde 1984, quando foi observado que a terceira causa de mortes decorrentes da exposição ao MeHg em Minamata eram devido a doenças cardiovasculares (14,1% do total de mortes), tem aumentado o interesse de cientistas sobre a relação entre a exposição ao MeHg e cardiotoxicidade (DE MARCO et al., 2010; FILLION et al., 2006; GUALLAR et al., 2002; MOZAFFARIAN, 2009; RISSANEN et al., 2000; VIRTANEN et al., 2005).

Na região Amazônica Brasileira, dois estudos com ribeirinhos do Rio Tapajós, chamam a atenção para a problemática do Hg em nível de sistema cardiovascular. Em um trabalho, com um enfoque epidemiológico e clínico, a hipertensão, embora em uma porcentagem pequena de ribeirinhos, era associada com a exposição ao Hg (FILLION et al., 2006). Em outro trabalho, em uma ótica subclínica, usando diferentes bioindicadores de exposição ao Hg, os pesquisadores elucidaram que o

Hg plasmático (Hg-P) estava associado com a produção de nitrito, um produto da oxidação do óxido nítrico e diretamente associado ao bom funcionamento do sistema cardiovascular (DE MARCO et al., 2010).

Assim, a relação entre o consumo de peixe e saúde cardíaca parece paradoxal. Isso porque o peixe é também uma importante fonte de ácidos graxos de cadeia longa (ômega 3) com efeitos cardioprotetores, anti-inflamatórios e anticarcinogênicos (CARROL; ROTH, 2002) e é, ao mesmo tempo, fonte de Hg, o qual pode impedir o efeito protetor dos ácidos graxos mencionados (RISSANEN et al., 2000).

1.5 Estresse Oxidativo e MeHg

O estresse oxidativo pode resultar de uma situação em que há uma diminuição dos teores de antioxidantes, um aumento de oxidantes/pró-oxidantes ou, uma combinação de ambas as condições (MACGRATH et al., 1995; MORENA et al., 2002). O desequilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes pode levar aos mais diversos danos celulares, desencadeando alterações progressivas em proteínas, lipídios, açúcares e DNA, reduzindo sua capacidade funcional e aumentando o risco ao desenvolvimento de doenças (BERR, 1998; FINKEL; HOLBROOK, 2000).

Um dos mais importantes mecanismos que explica o dano oxidativo induzido pelo MeHg é a sua alta reatividade com os grupos sulfidrílicos (-SH) de componentes biológicos endógenos (SCHURZ; SABATER-VILAR; FINK-GREMMELS, 2000). Esses compostos incluem glutatona reduzida (GSH), cisteína (Cys), metalotioneínas (MT), albumina, entre outros. Tal ligação é ambígua, uma vez que é importante tanto para a toxicidade (BRIDGES; ZALUPS, 2005), como para os mecanismos de detoxificação (ZALUPS, 2000).

Em relação à promoção da toxicidade, trabalhos enfocam no transporte desse metal, via membranas celulares, conjugados com compostos -SH, mimetizando o transporte de componentes essenciais e não tóxicos para as células. Por exemplo, para atravessar a barreira hematoencefálica, o Hg complexado com a Cys mimetiza o aminoácido metionina, usando o mecanismo de transporte desse último (BRIDGES; ZALUPS, 2005). Já o mecanismo de detoxificação do MeHg apresenta bases mais amplas, que mostram a importante função da GSH. Esse tripeptídeo livre é o mais abundante e essencial tiol não-protéico nas células. É considerado o principal antioxidante endógeno do organismo (DRINGEN, 2000), responsável pela manutenção do estado redox normal. A GSH serve como uma primeira linha de defesa celular que objetiva eliminar os compostos de Hg (OU et al., 1999). Tanto o Hg^{2+} quanto o MeHg conjugam-se à grupamentos -SH da GSH, assim como à resíduos de Cys, de forma covalente, minimizando os efeitos deletérios das diferentes formas do metal, tal como impedindo a ligação do Hg com proteínas celulares. Tal propriedade é tão importante que é, inclusive, explorada na farmacologia, onde compostos de baixo peso molecular, conhecidos como agentes quelantes, DMSA e DMPS, são usados no tratamento da intoxicação por Hg (RISHER; AMLER, 2005).

Outra ação benéfica da complexação Hg e GSH é apontada durante a eliminação do metal pela bile, onde a taxa de secreção do mesmo parece ser dependente do teor de GSH (BALLATORI; CLARKSON, 1985; GREGUS; VARGA, 1985). No contexto da secreção, estudos têm apontado que o referido complexo é importante para o efluxo de Hg a partir dos astrócitos - primeira linha de defesa celular contra agentes tóxicos no SNC - e também a partir de células do tecido renal (ENDO; SAKATA, 1995; LASH; PUTT; ZALUPS, 1999; QIAN et al., 2001).

Adicionalmente, o fato de a GSH ser um potente antioxidante, e de que radicais livres são gerados durante a exposição ao Hg, é mais um fator que povoa a linha dos benefícios (LASH; PUTT; ZALUPS, 1999; ZALUPS, 2000).

Esta ação protetora mediada pela GSH durante a exposição ao Hg pode fazer com que as reservas deste antioxidante diminuam, e que o organismo fique susceptível ao dano oxidativo pela acumulação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs e ERNs, respectivamente), normalmente neutralizadas pela GSH (SIES et al., 1972). Ou seja, o sistema glutathiona de interconversão (Figura 1) nas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) estaria com capacidade redox reduzida devido à falta de GSH.

Figura 1. Interconversão da glutathiona nas suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) pela ação das enzimas glutathiona peroxidase (GSH-Px) e glutathiona redutase (GR) (SIES et al., 1972).

Além da ação direta sobre o aporte de GSH, o MeHg pode atuar também sobre a atividade de enzimas antioxidantes.

A atividade da glutathiona peroxidase (GSH-Px), principal peroxidase presente em mamíferos, é dependente de glutathiona reduzida e utiliza selênio (Se) como cofator. Sua ação se baseia na oxidação da GSH ao dissulfeto correspondente

(GSSG), enquanto H_2O_2 e peróxidos orgânicos (alquil-hidro-peróxidos) são reduzidos (Figura 2). A razão GSH/GSSG em células normais é alta, pois a GSSG é constantemente renovada pela ação da glutathiona redutase (GR) e NADPH (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

Figura 2. Sincronia de ação das enzimas antioxidantes (SOD, GSH-Px e CAT) e a GSH.

A superóxido dismutase (SOD), responsável pela dismutação do radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), apresenta-se sob isoformas diferentes, geralmente existentes em compartimentos celulares distintos e com particularidade quanto ao ligante no sítio ativo. Por exemplo, a SODCuZn (sítio ativo dependente de cobre e zinco) é predominante no citoplasma celular, enquanto a SODMn (com manganês no sítio ativo) prevalece na matriz mitocondrial (FRIDOVICH, 1998).

A catalase (CAT) está localizada nos peroxissomas das células de todos os órgãos principais do corpo, cuja função principal é dismutar o H_2O_2 em água e oxigênio molecular (FRIDOVICH, 1998). Como pode ser observado nas Figuras 1 e 2, tanto a GSH quanto as enzimas antioxidantes estão envolvidas num mecanismo de elevada sincronia e atuam de forma altamente cooperativa.

Além da GSH e enzimas antioxidantes outros biomarcadores podem ser utilizados para o biomonitoramento do estresse oxidativo. Por exemplo, o malondialdeído (MDA) é um produto secundário da peroxidação lipídica, o qual pode ser quantificado no plasma (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991; GROTTTO et al., 2007).

Na linha de compostos tiólicos a ácido aminolevulínico desidratase (ALA-D) é uma enzima com grupos -SH e a mensuração da sua atividade e reativação em conjunto com outros biomarcadores de dano oxidativo são frequentemente utilizados, também, como biomarcadores do estresse oxidativo (AUGUSTI et al., 2007, 2008; FARINA et al., 2004; GROTTTO et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2003; PEROTTONI et al., 2004; VALENTINI et al., 2007, 2008).

1.6 O sistema imune

O processo inflamatório ocorre em resposta a uma lesão tecidual, agressão sofrida ou pela presença de antígenos (Ag) estranhos. É importante na mobilização de defesas específicas - imunológicas e não imunológicas - contra a injúria (KAYSEN; EISERICH, 2004).

Essa resposta inflamatória envolve dois componentes: a inata ou inespecífica, com aspectos imunológicos e não imunológicos, e a adaptativa ou específica, a qual é estritamente veiculada a uma resposta imunológica.

O primeiro componente a manifestar-se é a resposta inata, a qual é constituída por respostas celulares e vasculares. Tais respostas são controladas pelos mediadores químicos produzidos por células, órgãos, entre outros, no referido processo. São importantes figurantes dessa fase os macrófagos teciduais, os leucócitos, e as citocinas [interleucinas (IL) - particularmente 1 e 8 - e o fator de necrose tumoral do tipo alfa (TNF- α)]. Além disso, a ativação do sistema

complemento, a liberação de outros mediadores químicos, como a histamina, óxido nítrico (NO), as prostaglandinas (PGs) e a proteína C reativa (PCR) fazem parte da resposta imune inata. São esses mediadores, em conjunto, responsáveis pelas manifestações clínicas dessa resposta, como a vasodilatação, extravasamento vascular, quimiotaxia, expressão de moléculas de adesão na superfície de células, entre outras (WALTER; ÁVILA, 2009).

A PCR é uma importante proteína plasmática envolvida na linha de frente (VOLANAKIS, 2001) da resposta inflamatória a algum agente estranho, seja microorganismo ou algum outro xenobiótico (VAS; MONESTIER, 2008) com potencial de estimular o sistema imune. Os principais indutores da secreção de PCR pelo fígado são as interleucinas 1 e 6, e indiretamente o TNF- α (VOLANAKIS, 2001).

Essa proteína é dependente de cálcio e interage especificamente com a fosfocolina, a qual é constituinte de alguns tipos de polissacarídeos que constituem as paredes e/ou membranas celulares de microorganismos. Ademais, a fosfocolina é integrante da membrana celular da maioria das células humanas. Para a ligação da PCR com a membrana das células é necessário que essas estejam danificadas, ou seja, necrosadas ou em processo de apoptose, e dessa maneira liberarem a lisolecitina, componente essencial para a ligação entre a PCR e a célula alvo. Na sequência, essa interação ativa a via clássica do sistema complemento e ocasiona a fagocitose - por neutrófilos, monócitos e macrófagos - da célula injuriada (MOLD; GRESHAM; DUCLOS, 2001). Além da fagocitose, também são demonstrados que o complexo PCR-receptor ativado desencadeia a produção de H₂O₂ (TEBO; MORTENSEN, 1991) e secreção de IL-1 e TNF- α (GALVE-DE ROCHEMONTEIX et al., 1993).

Nas últimas décadas é recorrente no meio científico a associação entre a elevação da concentração plasmática da PCR determinada por método ultra-

sensível (PCRus) e diferentes tipos de doenças cardiovasculares - DCV - (RIDKER et al., 2000). Em 2003, órgãos de saúde internacional, como a AHA ("American Heart Association") e o CDC ("Centers for Disease Control and Prevention") definiram os valores de PCRus associados com risco para doença cardiovascular (PEARSON et al., 2003). As concentrações definidas e o risco referido para DCV são: i) menores que 1 mg/L indicam baixo risco; ii) entre 1 e 3 mg/L indicam risco intermediário e iii) maiores que 3 mg/L estão relacionados com alto risco.

Numa segunda linha de defesa surge a resposta imune adaptativa, que aumenta acentuadamente a eficácia da resposta inata. Nessa etapa os diferentes subtipos de linfócitos são os agentes essenciais. São essas células que reconhecem especificamente os agentes estranhos (Ag), se diferenciam, secretam mediadores químicos adicionais e alguns subtipos celulares desses produzem anticorpos (Ac) (WALTER; ÁVILA, 2009).

Os linfócitos se dividem em duas linhagens: a T e a B. Os linfócitos T se subdividem ainda em citotóxicos ou CD8+ e auxiliares ou CD4+. Essas últimas células são importantes para reconhecerem o Ag e, a partir daí elas próprias passam a produzir IL do tipo 2 (IL-2), uma citocina com função autócrina, ou seja, o próprio mediador químico provoca a proliferação das células T CD4+ causando o surgimento de clones dessas células. Essa linhagem de clones é chamada de células do tipo Th0, ou seja, uma grande quantidade de células auxiliares (do inglês *helper*). As células Th0 se dividem em dois subgrupos denominados de Th1 e Th2. Cada via (Th1 ou Th2) é representada por citocinas específicas (WALTER; ÁVILA, 2009).

A via celular Th1 produz, principalmente, IL-2, TNF- β e interferon gama (IFN- γ), os quais são responsáveis por ativar macrófagos, estimular os linfócitos T CD8+

mencionados acima e, inibir as funções das células da via Th2. Já essa última via produz, principalmente, as interleucinas 4, 5, 6, 10 e 13 (KAUR et al., 2009; PESTKA et al., 2004), e são esses mediadores que estão envolvidos nas ações imunológicas da referida via. Tais ações são: i) o estímulo para as células B proliferarem e/ou diferenciarem-se em plasmócitos (produtores de Ac); ii) diferenciação e ativação dos eosinófilos e iii) a liberação de algumas citocinas, como por exemplo a IL-10 e IL-13. Essas últimas citocinas por inibirem as funções das células da via Th1 são conhecidas como anti-inflamatórias.

1.6.1 O sistema imune e a exposição ao Hg

Em 1971, um estudo *in vivo* revelou que o Hg (na forma inorgânica) induzia à glomerulonefrite (BARIETY et al., 1971). Estudos posteriores demonstraram que essa patologia era devido ao estímulo auto-imune. (DRUET et al., 1978, 1988). Desde então estudos, inclusive na Amazônia Brasileira, envolvendo a imunotoxicidade do metal ascenderam. A proliferação de células B e T, a elevação na concentração de imunoglobulinas (inclusive com produção de auto-anticorpos), citotoxicidade, morte celular por necrose e/ou apoptose, deposição de imunocomplexos nos rins e alteração no conteúdo de citocinas são alguns dos efeitos no sistema imune associados à exposição ao Hg (GARDNER et al., 2010; NYLAND et al., 2011; SILBERGELD; SILVA; NYLAND, 2005; SILVA et al., 2004).

A alta afinidade do Hg por compostos endógenos (grupos -SH, por exemplo) é determinante para a toxicidade do metal em células imunológicas (VAS; MONESTIER, 2008). Assim o efeito tóxico é dependente do conteúdo celular de GSH (GIRARDI; ELIAS, 1993; LASH; PUTT; ZALUPS, 1999; ZALUPS; LASH, 1997)

ao mesmo de tempo em que esse conteúdo é dependente da dose, tempo de exposição e espécie do Hg (HULTBERG; ANDERSSON; ISAKSSON, 1998; MONDAL et al., 2005).

Adicionalmente, o Hg interfere de alguma maneira em muitos agentes moduladores da resposta imune. Alguns desses efeitos são a subtração da capacidade de macrófagos em liberar IFN- γ , TNF- α , e NO (ECKHARDT; BELLMANN; KOLB, 1999) bem como a diminuída indução dos lipopolissacarídeos dessas células. Nessa linha, a inibição da proteína quinase C pelo Hg (YEH et al., 2004) é relacionada com o aumento de cálcio intracelular (GASSÓ et al., 2001), o que é maléfico para a célula, e contribui para a disfunção, com aumento, inclusive, das EROs (KIM; JOHNSON; SHARMA, 2002).

No âmbito da imunotoxicidade, as citocinas - importantes mediadores químicos do sistema imune e que podem ser quantificados no sangue - têm sido estudadas com afincos mais recentemente. A modulação do Hg sobre várias citocinas é relatada (AGRAWAL et al., 2007; DRUET; PELLETIER, 1996; GARDNER et al., 2009, 2010; NYLAND et al., 2011).

A quebra da homeostase, devido a exposição ao Hg, entre a resposta imune tipo 1 (via Th1) e a do tipo 2 (via Th2) pode explicar as conseqüentes disfunções imunes, particularmente àquelas associadas as doenças auto-imune (como a glomerulonefrite) (HU; ABEDI-VALUGERDI; MÖLLER, 1997) e outras patologias em que a inflamação excessiva é presente (APOSTOLAKIS et al., 2008; EKLUND et al., 2007; GARDNER et al., 2010). Além disso, essa quebra da homeostase entre as vias citadas é relacionada ao estresse oxidativo (AGRAWAL et al., 2007; WU; RICKER; MUENCH, 2006).

1.7 As controvérsias nos estudos dos efeitos tóxicos após exposição ao Hg

Vários estudos, tanto no Brasil como em outros países demonstram a não observância de sinais e sintomas de intoxicação ao MeHg, mesmo quando as populações são expostas a altas doses desse metal (DÓREA et al., 2005a; GRANDJEAN et al., 1992; GRANDJEAN; WEIHE, 1993; GRANDJEAN; WEIHE; WHITE, 1995; MCKEOWN-EYSSSEN; RUEDY; NEIMS, 1983; YOSHIZAWA et al., 2002).

Na Região Amazônica nenhum caso da doença de Minamata foi, até o momento, observado (PASSOS; MERGLER, 2008). Apenas sinais e sintomas isolados dessa patologia, tanto em adultos como em crianças, são reportados. Por exemplo, Lebel e colaboradores (1996, 1998), em investigações com adultos, evidenciaram uma diminuição na capacidade de distinguir cores (para ambos os gêneros) e destreza manual (somente em mulheres) associadas à exposição ao MeHg. Adicionalmente, essas alterações neurológicas eram associadas à exposição crônica ao metal (DOLBEC et al., 2000). Também, alterações pontuais em nível de funções neuropsicológicas, tal como déficit de atenção (YOKOO et al., 2003) foram assinaladas. Em crianças dessa região as alterações descritas incluem déficit na função motora, atenção, visão espacial (GRANDJEAN et al., 1999) e desenvolvimento neurológico (TAVARES et al., 2005).

Num esforço inicial para superar as alterações evidenciadas acima e decorrentes da exposição ao Hg, uma intervenção participativa foi realizada na região do Rio Tapajós. Esse tipo de intervenção foi proposta por pesquisadores brasileiros e canadenses, no intuito de estimular o consumo preferencial de espécies de peixes herbívoros, os quais são menos contaminados pelo MeHg (GUIMARÃES

et al., 2000; ROULET et al., 2000). Como consequência dessa intervenção foi constatada uma melhora, por exemplo, nas funções motoras da população graças à redução da exposição ao Hg (BAHIA et al., 2004).

Paralelamente a esta campanha de sensibilização e capacitação, um inquérito alimentar exploratório permitiu o registro do consumo de todos os alimentos que compunham a dieta ribeirinha com o objetivo de identificar elementos presentes nessa que fossem capazes de influenciar nas concentrações de Hg em biomarcadores de exposição (PASSOS et al., 2001). Os resultados deste inquérito mostraram que os peixes e alimentos pertencentes a diferentes categorias alimentares e provenientes tanto da floresta quanto dos quintais familiares integram a dieta local. Além disso, este estudo permitiu evidenciar que para um mesmo consumo de peixes, pessoas consumindo frutas mais frequentemente apresentaram concentrações inferiores de Hg no cabelo comparativamente às pessoas que consumiam frutas menos frequentemente ou que não tinham o hábito de consumir tais frutas (PASSOS et al., 2003). Assim, esses autores sugeriram um possível efeito protetor do consumo de frutas contra a bioacumulação do metal nos habitantes da região.

Num segundo estágio dessas pesquisas pioneiras, a hipótese do consumo de frutas como um possível fator de proteção contra a bioacumulação do Hg foi testada no âmbito de toda a bacia do Rio Tapajós, e a análise dos dados confirmou que as frutas constituem um alimento capaz de modular a forte relação entre o consumo de peixes contaminados e os teores de Hg, não só nos cabelos, mas também no sangue (PASSOS et al., 2007b).

Assim, os resultados dos inquéritos regionais citados constituem uma forte evidência que o consumo de frutas pode gerar um efeito protetor em relação à

exposição ao Hg em populações ribeirinhas da Amazônia e os inconsistentes achados em relação à toxicidade do Hg podem estar associados com a modulação dietética (CHAPMAN; CHAN, 2000).

1.8 Fatores nutricionais podem afetar os efeitos tóxicos do mercúrio

Em se tratando de pesquisa epidemiológica é factível afirmar que inúmeros fatores podem influenciar na resposta do organismo ao metal. Tal resposta pode ser o efeito tóxico, a exacerbação do mesmo, bem como o abrandamento da toxicidade. A idade, o gênero, a saúde como um todo, a forma química do Hg, o tipo de fonte do agente tóxico - por exemplo, para o MeHg, a espécie de peixe - a localização geográfica, a estação do ano, as características genéticas e o tipo de nutrientes presentes na dieta da população são algumas das co-variáveis que podem influenciar na toxicocinética e toxicodinâmica do Hg (BÉLANGER et al., 2008a, 2008b; BEMIS; SEEGAL, 2000; CASTOLDI et al., 2008; CLARKSON; MAGOS, 2006; COCCINI et al., 2006, 2007; GRANDJEAN et al., 1998; GROTTTO et al., 2011a; PASSOS et al., 2003; VAHTER et al., 2007).

Além disso, no âmbito de nutrientes provenientes de alimentos a localização geográfica, fatores de caráter social e demográfico, tais como o gênero, a idade, o índice de massa corporal (IMC), o hábito de fumar, o consumo de bebida alcoólica, a presença de outras patologias, o sedentarismo, entre outras podem influenciar nas concentrações sanguíneas de metais essenciais e vitaminas (ALIMONTI et al., 2005; BOCCA et al., 2011; GALAN et al., 2005; LEMIRE et al., 2006).

Outro potente influenciador nas concentrações dos nutrientes em questão na Região Amazônica pode ser o nível dos rios, os quais variam em torno de seis metros entre as estações (LEBEL et al., 1997; PASSOS et al., 2001).

No contexto de nutrientes, ao longo desta pesquisa, foram focalizados alguns micronutrientes - metais e vitaminas lipossolúveis - com função antioxidante. Os metais essenciais - cobre (Cu), manganês (Mn), selênio (Se) e zinco (Zn) - agem indiretamente como contedores do dano oxidativo, uma vez que, entre outras funções, são cofatores de diferentes enzimas antioxidantes (BOCCA et al., 2011). As vitaminas hidrofóbicas – β -caroteno, licopeno, vitamina A e vitamina E - são antioxidantes clássicos, para os quais, em geral, a atividade protetora é dependente da dose (GALAN et al., 2005).

1.8.1 Cobre (Cu)

Amplamente distribuído na natureza e, em seres humanos é responsável por funções biológicas necessárias a homeostase natural (NAGANO et al., 2005). É um agente redox ativo, oscilando entre a forma oxidada (Cu^{2+}) e reduzida (Cu^{1+}), e essa capacidade oscilante o torna hábil como cofator catalítico de enzimas importantes fisiologicamente (KEDZIERSKA et al., 2005). A citocromo oxidase (importante na cadeia respiratória mitocondrial), a ceruloplasmina (SQUITTI et al., 2008), a lisil oxidase (CASHMAN et al., 2001) e a superóxido dismutase (SOD) (TERRÉS-MARTOS et al., 1997) são algumas das enzimas dependentes de Cu para sua perfeita atividade.

O cobre é fornecido ao ser humano a partir da dieta e, está amplamente presente em alimentos, tais como legumes, cereais, carnes em geral, frutos secos

(por exemplo, castanhas) e, bebidas, inclusive a água (BAIERLE et al., 2010; WU; RICKER; MUENCH, 2006). Além disso, a necessidade diária requerida é baixa, o que conjuntamente com as fontes diversas torna a deficiência desse metal rara (WU; RICKER; MUENCH, 2006). Após absorvido, o cobre é rapidamente sequestrado pela ceruloplasmina a partir do sangue, ou seja, sua dosagem nesse compartimento significa exposição recente (BARCELOUX, 1999).

Existem patologias de origem genética associadas à deficiência e excesso de Cu (BAIERLE et al., 2010; KANAMUKALA; BONEH; ZACHARIN, 2002; NAGANO et al., 2005). Além dessas patologias, outros efeitos e consequentes sintomas podem ocorrer devido à carência do elemento em questão, como a atividade diminuída da SOD e deficiência hematopoiética (KANAMUKALA; BONEH; ZACHARIN, 2002; MILNE; NIELSEN, 1996; NAGANO et al., 2005; WU; RICKER; MUENCH, 2006). A patogênese da osteoporose (CASHMAN et al., 2001) e de doenças cardiovasculares (KEDZIERSKA et al., 2005; MILNE; NIELSEN, 1996) são, também, influenciadas pela falta desse metal essencial. Nas doenças neurodegenerativas - como Alzheimer, Parkinson, doença de Huntington, esclerose múltipla - é corrente na literatura as investigações acerca da função do Cu (SQUITTI et al., 2008).

1.8.2 Manganês (Mn)

Este metal essencial existe em vários estados de oxidação (Mn^{2+} ; Mn^{3+} ; Mn^{4+} ; Mn^{6+} ; Mn^{7+}). Para humanos esse metal é importante na formação do osso, no metabolismo de carboidratos e gorduras, regulação da síntese e secreção de insulina, absorção de cálcio e, ainda, ações no SNC (ASCHNER; ASCHNER, 1990; ASCHNER; DORMAN, 2006). Nesse último sua essencialidade é mais pronunciada,

uma vez que algumas enzimas são responsivas somente ao Mn como cofator. Para providenciar as ações citadas, na periferia e SNC, o Mn, por exemplo, é cofator de uma gama de metaloenzimas como a arginase, que é responsável por eliminar a amônia do corpo, a grande família das SODs, a piruvato descarboxilase, a glutamina sintetase, na qual ao redor de 80% do Mn dos astrócitos é ligado e, parece ter uma função regulatória.

Como fontes de exposição para o homem incluem-se as fontes naturais (regiões com teor elevado de Mn no solo, água e ar), hábitos alimentares (ingestão preferencial de alimentos ricos no metal), o hábito de fumar, indústrias (por exemplo, de ferro e aço), nutrição parenteral e, a combustão de automotores se a gasolina dos mesmos contiver o aditivo MMT (BÁRÁNY et al., 2002; BARCELOUX, 1999; GOULLÉ et al., 2005; NUNES et al., 2010). Além disso, condições patofisiológicas associadas, como carência de ferro (ASCHNER, ASCHNER, 1990) e qualquer problema na produção ou fluxo biliar podem, também, elevar o Mn sanguíneo (ASCHNER; DORMAN, 2006).

A deficiência de Mn é rara e controversa (BARCELOUX, 1999). Por outro lado, a toxicidade, principalmente a neurotoxicidade do metal é mais preocupante e fortemente embasada (ASCHNER; DORMAN, 2006; BARCELOUX, 1999; BOWLER et al., 2007).

Mais recentemente, a determinação do Mn em sangue vem sendo contestada como marcador de exposição ao mesmo (ZHENG et al., 2011). O tempo de meia-vida biológica do metal nesse compartimento é ao redor de 2h (ZHENG; KIM; ZHAO, 2000) enquanto no SNC pode ultrapassar 50 dias (NEWLAND et al., 1987; TAKEDA; SAWASHITA; OKADA, 1995). A busca por um melhor marcador, como por exemplo, o uso das concentrações sanguíneas de dopamina ou prolactina vem sendo avaliada (ZHENG et al., 2011).

1.8.3 Selênio (Se)

O Se é essencial para a homeostase adequada do corpo humano frente a situações fisiologicamente estressoras. É cofator de proteínas cruciais na defesa antioxidante, como a selenoproteína P, a família das tireodoxina redutases e a GSH-Px (BÉLANGER et al., 2008a). O selênio também apresenta efeitos protetores sobre os sistemas imune, nervoso e cardíaco, bem como na prevenção ao câncer e catarata (COMBS; GRAY, 1998; LEMIRE et al., 2010b).

A alimentação é a principal fonte de Se para o ser humano e sua concentração na cadeia alimentar vai depender, por exemplo, do solo onde esses alimentos são cultivados (HAMILTON, 2004; LEMIRE et al., 2006), da sazonalidade e dos hábitos alimentares da população (LEMIRE et al., 2009). Na linha de alimentos, os peixes, mamíferos marinhos, ovos, cereais (como a castanha do Pará) e cogumelos são fontes importantes de Se (DUMONT; VANHAECKE; CORNELIS, 2006; LEMIRE et al., 2010a).

Desde a década de 60, a interação entre o Se e o Hg vem sendo avaliada como um fator que pode diminuir os efeitos tóxicos decorrentes da exposição ao Hg (GROTTO et al., 2009a; YONEDA; SUZUKI, 1997a, 1997b).

1.8.4 Zinco (Zn)

Ao redor de 300 enzimas contém Zn, tanto como cofator ou como integrante estrutural (VALLEE; FALCHUK, 1993). Dada sua ampla distribuição, esse elemento químico desempenha várias funções biológicas (SANDSTEAD, 2000).

Fontes alimentícias de Zn incluem cereais, leguminosas, oleaginosas, carnes vermelhas e peixes (ALIMONTI et al., 2005; NARDI et al., 2009).

A deficiência do metal desencadeia uma série de efeitos no organismo, tais como crescimento inadequado, lesões na pele, anemia, diarreia, hipogonadismo, anorexia, retardo mental, problemas de visão, descontrole do sistema imune (principalmente em relação às células T e seus mediadores) (IBS; RINK, 2003; HAASE; RINK, 2009).

Os efeitos tóxicos decorrentes de uma elevada exposição ao Zn não são comumente documentados. Quando em excesso ele parece estar associado com uma exacerbação da resposta inflamatória (SONG et al., 2010; TSOU et al., 2010), redução da absorção do Cu, declive no teor sérico de HDL (BARCELOUX, 1999) e disfunção da função renal e hepática (MIRAZI et al., 2012).

1.8.5 Vitaminas A e E

A vitamina E é um termo genérico que se refere, no mínimo, a oito compostos lipossolúveis de origem natural, tais como os tocoferóis (α , $-\beta$, $-\delta$ e $-\lambda$) e tocotrienóis (α , β , δ e λ). O composto α tocoferol é o mais abundante, representando em torno de 85 % do total de vitamina E (ABIAKA; OLUSI; SIMBEYE, 2002). Este último tipo é um importante componente das lipoproteínas, tais como as frações de colesterol de alta densidade (HDL) e de baixa densidade (LDL) (BÉLANGER et al., 2008b). Além disso, a oxidação do α tocoferol, um clássico responsável pela formação de LDL oxidado, é um importante agente da aterogênese (STOCKER; KEANEY, 2004).

Como fontes de vitamina E incluem-se os alimentos de origem vegetal, principalmente aqueles folhosos de coloração verde escura, as sementes oleaginosas, os óleos vegetais e o gérmen de trigo. Também essa vitamina é encontrada em alimentos de origem animal como a gema do ovo e peixes (AFONSO et al., 2008).

Como elemento constitutivo de lipoproteínas plasmáticas, bem como de membranas celulares, a vitamina E exerce sua principal função: a ação antioxidante (ABIAKA; OLUSI; SIMBEYE, 2002; BÉLANGER et al., 2008b).

A vitamina A ou retinol é importante na integridade dos epitélios e a hipovitaminose desse tipo é relacionada à ceratinização de diversos epitélios corporais. Também a ação antioxidante dessa vitamina é relatada (RAGIN et al., 2010; TOPINKA et al., 2007), no entanto tal ação é contraditória (DE OLIVEIRA et al., 2009; ROEHRS et al., 2009).

Os frutos e vegetais são fontes indiretas de vitamina A, uma vez que são fontes de compostos pró-vitamina A (principalmente β -caroteno) (OLSON, 1989). Além disso, fontes diretas dessa vitamina são a carne bovina, os peixes, a manteiga, leite e o óleo de fígado de bacalhau.

1.8.6 Carotenóides

Consistem em mais de 600 pigmentos coloridos, naturais e sintetizados por plantas e microrganismos (STAHL; SIES, 2005), tendo como função primária absorver luz durante a fotossíntese em plantas ou, ainda, fotoproteção em microorganismos (OLSON, 1994). Algumas das principais fontes de substâncias do tipo carotenóides são cenouras e abóboras (α e β -caroteno), tomates e produtos derivados (licopeno), espinafre (luteína) e laranja (β -criptoxantina) (STAHL; SIES, 2005). O conteúdo plasmático de carotenóides pode funcionar como biomarcador da ingestão de vegetais e frutas, uma vez que esses alimentos são as maiores fontes desses compostos (GALAN et al., 2005; OLMEDILLA et al., 1994; ROCK, 1997). Além disso, eles são constituintes normais do sangue e tecidos de humanos, sendo

majoritários no sangue os carotenóides do tipo β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, licopeno e luteína e em baixas concentrações, a zeaxantina (PARKER, 1989) (Figura 3).

Dos mais de 600 carotenóides, menos de 10% atuam como precursores de vitamina A (retinol). O β -caroteno é o carotenóide nutricionalmente mais ativo compreendendo 15 a 30% dos carotenóides séricos totais, sendo que a vitamina A é formada primariamente pela clivagem central deste, preferencialmente no fígado e intestino (BENDICH, 1989; NAPOLI, 1996; PARKER, 1989). Teoricamente, o β -caroteno é clivado e produz 2 moléculas de retinal que por um processo de redução transforma-se em retinol (NAPOLI, 1996). Entretanto, diferenças na taxa de absorção, suscetibilidade para a oxidação e a habilidade para ser convertido a retinal, ácido retinóico e retinol, contribuem no fato do β -caroteno fornecer menos do que 50% da atividade biológica da vitamina A. De fato, em humanos a taxa de conversão admitida de β -caroteno para retinol é de 6:1 (OLSON, 1994).

Figura 3. Principais carotenóides encontrados no plasma (KRINSKI; JOHNSON, 2005).

Dentre os vários efeitos benéficos dos compostos em questão destaca-se a atividade antioxidante. Estes compostos exercem esse benefício pela sua capacidade de sequestrar as EROs, como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e radical peroxil ($\text{ROO}^\bullet$) (YOUNG; LOWE, 2001) e, estabilizando o elétron desemparelhado dessas espécies por ressonância (MANACH et al., 2004). O potencial antioxidante dos carotenóides depende da sua estrutura química sendo que os compostos acíclicos e que possuem nove ou mais duplas ligações conjugadas são os mais ativos sequestradores de radicais livres (MANACH, et al., 2004; OLMEDILLA et al., 1997). O licopeno é o carotenóide mais ativo como antioxidante, uma vez que sua estrutura é acíclica (FONTANA et al., 2000).

Dada a descrição acima, os compostos em questão desempenham um importante papel na prevenção de doenças associadas ao processo de estresse oxidativo. (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Ademais, na linha de benefícios dos carotenóides citam-se o aumento da função do sistema imune (BENDICH, 1989), proteção contra a radiação solar e inibição do desenvolvimento de certos tipos de câncer (MANACH, et al., 2004; OLMEDILLA et al., 1997).

2. OBJETIVOS

Avaliar em diferentes estações do ano e comunidades ribeirinhas amazônicas, características sociais e demográficas, a exposição ao MeHg, o status de metais essenciais (Cu, Mn, Se e Zn), carotenóides (β -caroteno e licopeno) e vitaminas (A e E) no organismo, bem como os biomarcadores do estresse oxidativo - GSH, CAT, GSH-Px, SOD, MDA, atividade e reativação da ALA-D - e de inflamação – PCRus e ILs (10 e 6).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 As comunidades ribeirinhas participantes da pesquisa

O local de estudo está compreendido na região de convergência do médio Tapajós com a estrada Transamazônica. As comunidades participantes da pesquisa foram: Agrovila-Araipá ou Lago Araipá (LA), Assentamento Nova Estrela (NE) e São Tomé (ST) (Figura 4). As áreas selecionadas para este estudo foram determinadas pelos pesquisadores envolvidos no projeto PLUPH, designação que, em inglês significa: *“Poor land-use and poor health: primary prevention of human health through sound land-use for small-scale farmers of the humid tropics”*. Esse projeto tem por finalidade principal a implementação de sistemas agrícolas sustentáveis e adaptados ao mosaico de paisagens e culturas amazônicas. Trata-se de um programa de cooperação bilateral e multi-institucional entre o Canadá (Université du Québec à Montréal) e o Brasil (UnB, UFRJ, FIOCRUZ e USP-FCFRP). Esse programa foi lançado ao longo do ano de 2007 com apoio financeiro do Programa de Parcerias Teasdale-Corti para Pesquisa em Saúde Mundial. Tal programa é uma iniciativa inovadora de pesquisa em saúde internacional desenvolvido por vários parceiros da Iniciativa de Pesquisa em Saúde Mundial (IRSM, em francês), Institutos de Pesquisa em Saúde do Canadá (IRSC), Centro de Pesquisas para o Desenvolvimento Internacional do Canadá (CRDI), Ministério da Saúde do Canadá e Agência Canadense para o Desenvolvimento Internacional (ACDI), em parceria com diversos países em desenvolvimento.

Figura 4. Região de estudo (adaptação de imagens retiradas do *Google Earth* e EMBRAPA, 2004).

3.1.1 Lago Araipá

A comunidade do Lago Araipá (LA) pertence ao município de Aveiro, o qual foi fundado em 1971 e tem uma população atual de 18.830 habitantes (IBGE, 2010). A localidade é cercada por duas vertentes diferentes, de um lado, um lago, que se formou devido ao alcance de um braço - chamado pelos moradores de Canal Panamá - do Rio Tapajós. No lado oposto, a comunidade recebe a vicinal da Transamazônica, que perfaz uma distância de 23 Km até chegar no LA a partir da estrada Transamazônica. Devido a essas características geográficas, nessa comunidade há uma mescla de formação populacional, cumulando habitantes nativos do local com indivíduos que chegaram a esse ponto recentemente. A vicinal da Transamazônica é a principal porta de entrada para os imigrantes.

Um aglomerado de casas forma a “agrovila” do Araipá, onde também existem uma igreja e uma escola (de ensino básico). Nessa região central, os moradores têm disponível um gerador elétrico, que funciona durante um período de 4 horas por dia. Adicionalmente, ao redor do lago, se distribuem mais casas que também compõem a comunidade (Figura 5).

A população do Lago Araipá é composta por 105 habitantes com idade ≥ 18 anos, dos quais 46 (43,8%) são do gênero feminino e 59 (56,2%) são do gênero masculino. Nessa comunidade 52 pessoas (49,5%) são nativas de outro estado, enquanto 51 habitantes (48,6%) reportaram serem originários do Pará. Dos imigrantes de outras regiões, 44 (84,6%) são do Maranhão e 2 do Piauí (3,8%), enquanto Ceará, Distrito Federal, Tocantins, Rio Grande do Norte e Rondônia contribuem, individualmente, com um originário. Ainda, 1 morador é estrangeiro, proveniente de Portugal, e para 2 pessoas a informação de naturalidade não foi obtida.

Na Tabela 1 são mostradas as representatividades totais dos habitantes do LA em cada faixa etária englobada pela presente pesquisa.

Figura 5. Imagens fotográficas da comunidade do LA.

Tabela 1 - Representação do total de habitantes por faixa etária na comunidade do Lago Araipá.

<i>Faixa Etária (Anos)</i>	<i>Número Absoluto (n)</i>	<i>Número Percentual (%)</i>
18-24	6	5,7
25-34	33	31,4
35-44	23	21,9
45-54	13	12,4
55-64	15	14,3
≥65	15	14,3
Total	105	100

No que concerne à escolaridade, a educação básica é a prevalente entre os moradores dessa comunidade. Os segundo e terceiro lugar, em termos de anos estudados, são ocupados pelo ensino fundamental e médio, respectivamente. Entretanto, dois moradores reportaram que apresentam ensino superior.

Tabela 2 - Escolaridade dos moradores do LA.

<i>Escolaridade (Anos)</i>	<i>Número Absoluto (n)</i>	<i>Número Percentual (%)</i>
Sem educação formal	14	13,3
1-4 (educação básica)	56	53,3
5-9 (ensino fundamental)	26	24,8
10-12 (ensino médio)	7	6,7
Ensino superior	2	1,9
Sem informação	0	0,0
Total	105	100

3.1.2 Nova Estrela

A comunidade de Nova Estrela (NE) pertence ao município de Rurópolis, o qual segundo o último censo demográfico possui um contingente populacional de 32.950 habitantes (IBGE, 2010). Essa comunidade é um típico assentamento de colonos imigrantes. Estima-se que tenha sido estabelecida durante as décadas de 70 e 80, impulsionada pela implantação da estrada Transamazônica e pelas políticas de ocupação ao longo dessa estrada.

A vicinal da Transamazônica corta essa comunidade. Essa vicinal parte do Km 70 da estrada Transamazônica e perfaz 15 Km até chegar à Nova Estrela, de onde a vicinal segue até encontrar a comunidade do Lago Araipá, distância essa de mais 8 Km.

Na região central de Nova Estrela ocorre uma igreja, uma escola de ensino básico e um aglomerado de casas - onde residem a maioria dos habitantes - sendo toda essa região central atendida pela energia elétrica, que chegou nessa localidade no ano de 2005 (Figura 6).

Uma fração de 76 pessoas acima de 18 anos habitam a comunidade de Nova Estrela. Desse total, 32 (42,1%) são mulheres e 44 (57,9%) são homens. Aqui, a maior parte das pessoas é proveniente de outros estados (n=51 ou 67,1%), enquanto 23 pessoas (30,3%) são nativas do estado do Pará e para 2 habitantes (2,6%) essa informação não foi conseguida. O Maranhão é o estado de onde partiram a quase totalidade dos imigrantes (n=49). Dos estados do Piauí (n=1) e São Paulo (n=1) partiram os demais não paraenses.

As idades, distribuídas por faixas, estão elencadas na Tabela 3. No tocante à escolaridade, a maioria das pessoas se enquadra nas faixas do ensino básico e fundamental (Tabela 4).

Figura 6. Imagens fotográficas da comunidade de NE.

Tabela 3. Representação do total de habitantes por faixa etária na comunidade de Nova Estrela.

<i>Faixa Etária (Anos)</i>	<i>Número Absoluto (n)</i>	<i>Número Percentual (%)</i>
18-24	4	5,3
25-34	18	23,7
35-44	21	27,6
45-54	14	18,4
55-64	11	14,5
≥65	8	10,5
Total	76	100

Tabela 4. Escolaridade dos moradores de Nova Estrela.

<i>Escolaridade (Anos)</i>	<i>Número Absoluto (n)</i>	<i>Número Percentual (%)</i>
Sem educação formal	15	19,7
1-4 (educação básica)	37	48,7
5-9 (ensino fundamental)	21	27,6
10-12 (ensino médio)	3	4,0
Ensino superior	0	0,0
Sem informação	0	0,0
Total	76	100

3.1.3 São Tomé

A comunidade de São Tomé (ST), assim como a comunidade do LA, pertence ao município de Aveiro. A comunidade de ST apresenta uma escola de ensino fundamental, uma igreja, um centro comunitário, e uma empresa de mineração. Há certa aglomeração de casas nessa área central, enquanto às margens do curso do rio se distribuem a maioria das casas de ST (Figura 7). Não há qualquer forma de energia elétrica nessa comunidade.

Figura 7. Imagens fotográficas da comunidade de ST.

A população total de São Tomé, acima de 18 anos, é composta por 62 pessoas, das quais 26 (42%) são do gênero feminino e 36 (58%) são do gênero masculino.

A quase totalidade dos seus habitantes é nativa do estado do Pará (n=58 ou 93,6%), enquanto 3 pessoas (4,8%) são oriundas do nordeste, e para 1 habitante (1,6%) a informação de procedência não foi obtida. Os estados do nordeste dos quais provêm os migrantes são Ceará (n=1) e Maranhão (n=2).

No tocante a idade, na Tabela 5 são apresentados as totalidades - absoluta e percentual - das faixas etárias alvo do presente estudo.

Em relação à escolaridade, 3 habitantes não possuem educação formal, enquanto 58 indivíduos são detentores de algum nível de estudo (Tabela 6).

Tabela 5. Representação do total de habitantes por faixa etária na comunidade de São Tomé.

<i>Faixa Etária (Anos)</i>	<i>Número Absoluto (n)</i>	<i>Número Percentual (%)</i>
18-24	6	9,7
25-34	24	38,7
35-44	9	14,5
45-54	9	14,5
55-64	9	14,5
≥65	5	8,1
Total	62	100

Tabela 6. Escolaridade dos moradores de São Tomé.

<i>Escolaridade (Anos)</i>	<i>Número Absoluto (n)</i>	<i>Número Percentual (%)</i>
Sem educação formal	3	4,8
1-4 (educação básica)	26	42,0
5-9 (ensino fundamental)	22	35,5
10-12 (ensino médio)	10	16,1
Ensino superior	0	0
Sem informação	1	1,6
Total	62	100

3.1.4 População de estudo

A amostragem foi realizada por conveniência. Uma abordagem para convidar os comunitários foi realizada através de reuniões nas comunidades e visitas domiciliares com o intuito de explicar aos comunitários, de maneira clara para os mesmos, os objetivos do Projeto PLUPH. Participavam das coletas sanguíneas os comunitários que se sentissem motivados para a realização da mesma. Imagens fotográficas dessa abordagem são apresentadas na Figura 8.

Figura 8. Imagens fotográficas da abordagem participativa realizada com os comunitários.

Participaram do estudo pessoas com idade superior a 18 anos oriundos das comunidades citadas acima. Na estação cheia o número de participantes foi de 84 e desses 36, 21 e 27 pessoas pertenciam às comunidades de LA, NE e ST, respectivamente. Já na estação seca o número de participantes foi de 103, sendo que 44, 30 e 29 pessoas provinham das localidades de LA, NE e ST, respectivamente.

O questionário das variáveis sociais e demográficas foi realizado no contexto do Projeto PLUPH, uma vez que outros estudantes também necessitavam desses dados. Aos indivíduos que concordavam em participar da coleta sanguínea a altura, o peso corporal e a respectiva coleta de sangue (punção venosa) somente foi realizada após a leitura e assinatura do termo de consentimento aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) da Universidade de São Paulo (Anexo 1). A abordagem participativa e coleta das amostras foi realizada em 2 etapas, sendo que cada etapa teve duração média de 3 meses. A primeira etapa foi realizada entre março e maio de 2010 (período da cheia amazônica). Já a segunda etapa foi realizada no período anual de seca amazônica, compreendendo os meses de setembro até novembro de 2010. As amostras foram acondicionadas em freezer -20 °C, e em seguida enviadas para o Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da FCFRP, onde foram mantidas em freezer -80 °C até as análises.

Em relação aos resultados, esses foram entregues a população em março e abril de 2011 com o acompanhamento de integrantes do projeto PLUPH e de um médico da Secretaria de Saúde do município de Santarém, Pará, Brasil.

3.2 Separação e tratamento das amostras de sangue

Para análise dos parâmetros hematológicos (Ht e Hb), da GSH, MDA, vitaminas (A e E) e carotenóides (β -caroteno e licopeno) o sangue foi coletado em tubo contendo anticoagulante EDTA. Uma porção de sangue total foi utilizada para a determinação do Ht e Hb. O restante do sangue foi rapidamente centrifugado no local da coleta. O plasma resultante foi utilizado para a quantificação de MDA, vitaminas e carotenóides, e os eritrócitos para a dosagem da GSH. Para a análise das atividades das enzimas GSH-Px, SOD, CAT e da atividade e reativação da ALA-D o sangue foi coletado em tubo contendo anticoagulante heparina. Já para as determinações de Hg e metais essenciais, o sangue foi coletado em tubos “metal free”.

Para a avaliação das citocinas - inflamatória e anti-inflamatória - e PCRus o sangue foi coletado em tubo sem anticoagulante.

3.3 Reagentes e soluções utilizadas para as análises quantitativas do sangue

Água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 M Ω .cm) obtida pelo sistema Milli-Q (Millipore®) foi utilizada em todo o trabalho.

Todas as soluções e amostras foram armazenadas em frascos de polietileno após prévio tratamento para eliminação de contaminantes, usando solução de HNO₃ e capela de fluxo laminar classe 100 em sala limpa classe 1000.

As metodologias para as diferentes quantificações são elencadas abaixo:

3.4 Determinação do Hg-S

O Hg-S foi determinado segundo a metodologia proposta por Palmer et al. (2006). Foi utilizado para tal um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), marca Perkin Elmer e modelo Elan DRC II.

3.5 Determinação do hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb)

As determinações do Ht e Hb foram realizadas em um aparelho Cobas (Analisador hematológico, Roche Diagnostic®). Essas determinações foram realizadas para corrigir os biomarcadores do estresse oxidativo GSH, as enzimas antioxidantes e a atividade da ALA-D.

3.6 Determinação dos biomarcadores sanguíneos de estresse oxidativo

3.6.1 Quantificação da GSH

As determinações de glutathiona reduzida (GSH) foram realizadas por espectrometria UV-VIS, baseado no método de Ellman (1959). O sangue foi hemolisado com Triton X-100 e precipitado com ácido tricloroacético (TCA). Após, as amostras foram centrifugadas e os respectivos sobrenadantes reagem com o ácido 5,5-ditio-bis (2-nitrobenzóico) (DTNB). A absorbância foi medida a 412 nm e os resultados são expressos em $\mu\text{mol/mL}$ de eritrócito.

3.6.2 Atividade da CAT

A atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com o método de Aebi (1984). O sangue foi diluído em 50 mM de tampão fosfato salino (PBS). Após, um meio reacional com 20 μL de sangue previamente diluído, 1910 μL de PBS e 70 μL de H_2O_2 (10mM) foi preparado. O consumo de H_2O_2 em 240 nm determinava a atividade da CAT. Os resultados são expressos em k/g Hb.

3.6.3 Atividade da GSH-Px

A atividade da glutathione peroxidase (GSH-Px) foi determinada usando GSH, GR, NADPH, azida sódica e H_2O_2 . O método é baseado na oxidação do NADPH a 25 °C e 340 nm na presença dos reagentes citados anteriormente e sangue diluído (PAGLIA; VALENTINE, 1967). Os dados são expressos em nmol NADPH/min/mL de sangue.

3.6.4 Atividade da SOD

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi mensurada pela inibição da oxidação da epinefrina (adrenalina), a qual é dependente de SOD, a 480 nm (MCCORD; FRIDOVICH, 1969). Os dados são expressos em USOD/mg Hb.

3.6.5 Quantificação do MDA

A determinação de MDA foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector UV/VIS segundo o método de Grotto et al. (2007). O

plasma foi hidrolisado com hidróxido de sódio (NaOH), desproteínizado com ácido sulfúrico (H_3PO_4) e sofreu derivatização com ácido tiobarbitúrico (TBA), a uma temperatura de 90 °C por 45 minutos. Antes da injeção no cromatógrafo a extração da amostra foi realizada em n-butanol. A absorbância foi monitorada em 532 nm. Os resultados são expressos em μM .

3.6.6 Atividade e reativação da ALA-D

A atividade e a reativação (R) da ácido aminolevulínico desidratase (ALA-D) foi avaliada por espectrofotometria UV/VIS utilizando o método de Sassa (1982) com modificações. A referida atividade foi determinada pela formação de porfobilinogênio e a reativação foi obtida com a adição de ditione 2 mM (DTT) ao meio reacional. A incubação do sangue no meio reacional foi de 1 h a 37 °C. Ambas, a atividade e a reativação foram obtidas a 555 nm. Para a obtenção da reativação da enzima o seguinte cálculo foi realizado: $A-B/A \times 100$, onde A = absorbância obtida com DTT e B = absorbância sem DTT.

3.7 Avaliação dos marcadores inflamatórios e anti-inflamatórios

3.7.1 Quantificação da PCRus

A quantificação de PCRus foi avaliada usando kit imunoenzimático comercial Pharm Pak (R&D Systems®). A mensuração foi realizada por imunoturbidimetria em um Cobas Integra 400 Plus (Roche Diagnostics). Os resultados são expressos em mg/L.

3.7.2 Quantificação das ILs

A interleucina 10 (IL-10) foi determinada no soro usando kit de AlphaLISA (Perkin Elmer®), com interleucinas humanas. Neste tipo de ensaio um anticorpo (Ac) anti-IL-10 está presente no meio. A IL-10 do soro liga-se ao Ac anti-IL-10. Na sequência o complexo formado entre antígeno (Ag ou IL-10 sérica) e Ac se unem a um acceptor anti IL-10 que está conjugado com o AlphaLISA. A excitação a 680 nm libera um oxigênio radicalar que transfere energia ao acceptor, resultando em um pico de luz emitida no comprimento de onda de 615 nm. O limite de detecção é de 39-300 pg/mL. Os resultados são expressos em pg/mL.

A interleucina 6 (IL-6) foi avaliada por kit proveniente da Perkin Elmer® e usando o método imunoenzimático ELISA. Os resultados são expressos em pg/mL.

3.8 Quantificação dos metais essenciais

Os metais essenciais Cu, Mn, Se e Zn foram determinados usando o método de Nunes et al. (2010).

3.9 Quantificação dos carotenóides e vitaminas

A quantificação dos carotenóides (β -caroteno e licopeno) e das vitaminas (A e E) foi realizada pelo método de Epler, Ziegler e Craft (1993) com modificações. O plasma (90 μ L) foi adicionado a 450 μ L de uma solução de etanol: n-butanol (50:50, v/v) contendo 5 mg/mL de BHT (butil hidroxitolueno). O processo de extração líquida compreendia agitação, banho de gelo e por fim, centrifugação. O sobrenadante foi

transferido para o CLAE com detector UV/fluorescente e a auto-injeção de 20 μ L desse sobrenadante foi realizada. As seguintes condições cromatográficas foram seguidas: coluna de fase reversa com eluição isocrática (mistura de acetonitrila, dioxano, solução de metanol e trietilamina) e fluxo de 1,6 mL/minuto. β -carotene e licopeno foram quantificados a 450 nm. A vitamina A foi detectada usando excitação (340 nm) e emissão (520 nm) de fluorescência. A excitação de 298 nm e emissão a 328 nm, quantificava a vitamina E. Carotenóides e vitaminas são expressos em μ M/L.

3.10 Análise Estatística

As análises dos dados envolvem descrição dos dados, obtendo-se a média, mediana, desvio padrão, erro padrão, e valores mínimos e máximos encontrados, para cada variável analisada. Posteriormente foram realizados testes não paramétricos (teste de Mann Whitney, Kruskal Wallis) para verificar diferenças entre as estações de coleta e entre as comunidades. Foram realizadas correlações de Spearman para avaliar as relações lineares entre os parâmetros contínuos avaliados. Por último, foram usadas as análises de regressão múltipla para avaliar quais parâmetros eram associados com a exposição ao Hg. Para as análises de regressão múltipla, os dados foram transformados para a escala logarítmica. Para todas essas análises foram usados os programas estatísticos Jump[®] 9.0 e Statview[®] versão 5.0 para Windows (SAS Institute Inc.).

4. RESULTADOS

4.1 Resultados referentes aos dados sócio-demográficos

A Tabela 7 mostra os dados sócio-demográficos da população em estudo nas épocas de cheia e seca nas três comunidades. É possível observar que o número de participantes nesta pesquisa foi menor na estação cheia ($n=84$) comparativamente a estação seca ($n=103$). Esta observação vale, também, para as comunidades analisadas separadamente. A comunidade de LA foi a que apresentou o maior número de participantes tanto na cheia ($n=36$) como na seca ($n=44$). O segundo lugar em termos participação foi ocupado pela comunidade de ST na cheia ($n=27$) e NE ($n=30$) na seca. Assim, na estação cheia um menor número de participantes provinha de NE ($n=21$) enquanto que na seca amazônica o menor número de voluntários na pesquisa foi o de ST ($n=29$).

Ainda na Tabela 7 é possível observar que na estação cheia a participação feminina ($n=51$) foi superior à participação masculina ($n=33$). Na estação seca a totalidade de mulheres ($n=51$) e homens ($n=52$) voluntários na pesquisa foi equivalente. Com exceção de NE, na estação seca, onde a participação masculina ($n=17$) na pesquisa foi superior à participação feminina ($n=13$), nas demais comunidades e em NE na estação cheia a participação feminina foi superior à masculina.

Na Tabela 7 são também apresentados dados acerca da idade dos participantes da pesquisa. A média de idade na totalidade nas duas estações (cheia e seca) e entre os gêneros nas duas estações é apresentada. Não foi observada diferença estatística ($p>0,05$) na idade quando, ambos, estações e gêneros eram

considerados. A faixa etária com menor contingente foi a de voluntários com idade superior a 65 anos, tanto na estação de cheia quanto na estação de seca. A referida faixa etária foi representada por 1 voluntário (1,2%) na estação cheia e por 8 pessoas (7,8%) na estação oposta. Já as faixas etárias de 18-24 anos (n=22) e 25-34 (n=22) anos foram, na estação cheia, as que apresentavam um maior número de representantes. Na estação seca, as faixas de idade de 25-34 anos (n=24) e 35-44 anos (n=20) foram as que tinham o maior número de voluntários na pesquisa.

Também na Tabela 7 são apresentados os índices de massa corporal (IMC) dos participantes do estudo. Esse índice é similar entre os participantes das estações de cheia e de seca. Além disso, não foi observada diferença estatística, em ambas as estações, nos valores de IMC quando o gênero feminino foi comparado ao gênero masculino.

Na mesma Tabela 7, observa-se também que em torno de 50% dos participantes para cada estação não são originários do estado do Pará, ou seja, são originários de outra unidade federativa ou de outro país. O estado brasileiro que mais contribui para o fluxo de imigrantes na região é o Maranhão (dados não mostrados na Tabela 7).

Independente da estação, a comunidade de NE é a que possuía o maior percentual de originários de outra unidade federativa (55% e 70%, na cheia e seca, respectivamente), enquanto que na comunidade de ST uma ínfima quantia de voluntários é imigrante - 3,5% (cheia) e 3,7% (seca). Já, na comunidade do LA o percentual de indivíduos originários do PA e não originários desse estado foram divergentes nas estações mencionadas, sendo esse percentual de 61,7% e 38,3 % na cheia e de 40,9 e 50,1 % na seca, respectivamente. É importante salientar que o

tempo de residência na região para os imigrantes de outros estados foi igual ou superior a 14 anos (dados não mostrados na Tabela 7).

Independente da sazonalidade, a maioria dos participantes não possuía o hábito de fumar (Tabela 7). Os homens representavam o maior número de tabagistas nas duas diferentes épocas de coleta de amostras (dados não demonstrados na Tabela 7). Com exceção de NE (o número de fumantes diminuiu na estação cheia em comparação a época seca), para as demais comunidades o percentual de fumantes e não fumantes foi similar nas duas épocas climáticas. Na comunidade de NE o percentual de fumantes foi o mais alto na estação seca, representando 43,3% das pessoas contra 20,5 e 34,5%, em LA e ST, respectivamente. Essa ordem de prevalência não foi mantida na estação cheia, uma vez que nesse período o maior percentual de fumantes provinha de ST (39,3 %) seguido de NE (30%) e LA (22,2%).

No tocante ao consumo de bebida alcoólica a maioria declarou ser não consumidora em proporções similares nas estações de cheia e de seca (Tabela 7). Adicionalmente (dados não mostrados na Tabela 7), os homens foram os consumidores unânimes deste tipo de bebida. Apenas 1 mulher, participante na etapa da cheia, declarou ser usuária de bebida alcoólica. Dentro de cada comunidade a proporção entre os declarantes consumidores ou não desse tipo de bebida também se manteve entre as estações. Já, nas observações inter-comunitárias, tanto na cheia como na seca, a comunidade de NE foi a que apresentava o maior percentual de consumidores de bebida alcoólica - 23,3% e 25 % - respectivamente.

Tabela 7. Dados sócio-demográficos da população geral amostrada nas três diferentes comunidades em duas estações (cheia e seca). Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão, número total de pessoas (n) e porcentagem (%) correspondente.

Cheia (n=84)						Seca (n=103)					
n de Participantes por Comunidade						n de Participantes por Comunidade					
LA		NE		ST		LA		NE		ST	
36		21		27		44		30		29	
n de Participantes por Gênero na Totalidade e em cada Comunidade						n de Participantes por Gênero na Totalidade e em cada Comunidade					
Feminino			Masculino			Feminino			Masculino		
51			33			51			52		
LA	NE	ST	LA	NE	ST	LA	NE	ST	LA	NE	ST
23	12	16	13	9	11	23	13	15	21	17	14
Idade (anos) no Total de Participantes e por Gênero						Idade (anos) no Total de Participantes e por Gênero					
35,2 ± 14,8						39,0 ± 15,6					
Feminino			Masculino			Feminino			Masculino		
33,3 ± 14,4			38,2 ± 15,2			36,7 ± 14,8			41,2 ± 16,2		
n de Participantes por Faixa Etária						n de Participantes por Faixa Etária					
18-24	25-34	35-44	45-54	55-64	≥ 65	18-24	25-34	35-44	45-54	55-64	≥ 65
22	22	11	15	13	1	19	24	20	18	14	8
IMC (Kg/m ²)						IMC (Kg/m ²)					
23,6 ± 3,6						23,7 ± 3,8					
Feminino			Masculino			Feminino			Masculino		
23,7 ± 4,1			23,3 ± 2,7			24,6 ± 4,8			22,9 ± 2,1		
F		NF				F		NF			
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
25	29,2	59	70,2			32	31,1	71	68,9		
CBA		NCBA				CBA		NCBA			
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
14	17,0	70	83,0			18	17,5	85	82,5		
Origem do Pará						Origem do Pará					
Sim		Não				Sim		Não			
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
44	51,2	42	48,8			52	50,5	51	49,5		
n de Indivíduos em cada Nível de Escolaridade						n de Indivíduos em cada Nível de Escolaridade					
NEF		EF		EM		NEF		EF		EM	
6		62		14		18		65		19	
				ES						ES	
				2						1	

n: Número de Participantes; IMC: Índice de Massa Corporal; LA: Lago Araipá; NE: Nova Estrela; ST: São Tomé; F: Fumantes; NF: Não Fumantes; CBA: Consumidores de Bebida Alcoólica; NCBA: Não Consumidores de Bebida Alcoólica; NEF: Não relatavam Educação Formal; EF: Ensino Fundamental; EM: Ensino Médio; ES: Ensino Superior.

A escolaridade é outra variável apontada na Tabela 7. O ensino fundamental (1ª à 8ª séries) finalizado ou em curso foi declarado para 73,8% e 63,1% dos participantes das estações seca e cheia, respectivamente. É também esse nível de educação o mais frequente em todas as comunidades em estudo (dados não mostrados na Tabela 7). Dois voluntários declararam ter o ensino superior (ES) na estação cheia e, um voluntário declarou ser detentor desse nível de educação na estação seca.

No que concerne à ocupação, as Figuras 9A e 9B apresentam àquelas profissões relatadas nas estações cheia e seca, respectivamente. Em ambas as figuras observa-se que vários voluntários relataram mais que uma ocupação. A classificação “outra” inclui serviços domésticos, estudante, professor, agente de saúde, barqueiro, serviços gerais, trabalhador do comércio e servente na escola. Independente da estação, os atuantes em serviços domésticos foram mais frequentes (38 e 39 pessoas na cheia e seca, respectivamente). Em segundo lugar estava a ocupação de estudante (n=10) na estação de cheia e de professor (n=6) na época de seca.

Na comunidade do LA, na estação seca, diferentemente das outras comunidades, foi muito mais frequente, os voluntários declararem ter uma única ocupação, com frequências particulares na seguinte ordem: outra (36,4%), agricultor (13,6%) e pescador (4,5%). No entanto, essa observação não foi mantida na estação cheia, onde, assim como nas outras comunidades, ter mais de uma ocupação era prevalentemente declarado (dados não mostrados nas Figuras 9A e 9B).

Figura 9 (A-B). Atividades profissionais dos participantes da pesquisa nas estações de cheia e seca. As partes do círculo sem cor ao fundo indicam profissão única, enquanto as cores representam as ocupações cumulativas. Em Cinza: agricultor, pescador e outra; Azul: agricultor e outra; Amarelo: agricultor e pescador; Rosa: pescador e outra.

4.2 Resultados referentes à exposição ao Hg em sangue (Hg-S)

Na investigação da exposição ao Hg, a avaliação sanguínea mostrou que tal exposição foi significativamente diferente entre as épocas em que o estudo foi realizado. A concentração de Hg em sangue era significativamente superior na estação cheia (média: $75,7 \pm 59,2$ $\mu\text{g/L}$, mediana: $57,1$ $\mu\text{g/L}$, faixa: $7,9 - 231$ $\mu\text{g/L}$) em contraposição a estação seca (média: $37,5 \pm 34,7$ $\mu\text{g/L}$, mediana: $26,8$ $\mu\text{g/L}$, faixa: $1,3 - 178$ $\mu\text{g/L}$). Essa dependência da sazonalidade foi observada em todas as comunidades (Figura 10).

Figura 10. Resultados das determinações de Hg-S nas comunidades de estudo na Cheia e Seca. LA: Lago Araipá; NE: Nova Estrela; ST: São Tomé. **a**: significativamente diferente de NE na mesma estação; **b**: significativamente diferente de ST na mesma estação; **+**: significativamente diferente do valor achado nessa mesma comunidade na estação seca. Os valores de Hg são dados como média $\pm$ desvio padrão. Significativamente diferente quando $p > 0,05$.

Nessa mesma figura é possível observar que os valores de Hg nas comunidades, independente da estação, guardam uma relação significativa e decrescente na seguinte ordem: ST > LA > NE.

Na Tabela 8 são mostrados os valores de Hg sanguíneo em relação às características sociais e demográficas do tipo categóricas. Os valores de Hg-S não foram diferentes, em ambas as estações, entre os gêneros (feminino e masculino), entre fumantes (F) e não fumantes (NF) e entre os consumidores de bebida alcoólica (CBA) e não consumidores desse tipo de bebida (NCBA) ($p > 0,05$). Por outro lado, diferenças significativas nos teores de Hg-S foram detectadas em relação à origem. Os originários do Pará apresentavam valores de Hg-S significativamente mais elevados que os não originários desse estado, tanto na cheia ($p = 0,004$) como na seca ($p < 0,0001$).

Tabela 8 - Dados descritivos do mercúrio sanguíneo (Hg-S) em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos.

	Cheia (n=84)		Seca (n=103)	
	Mulheres (n=51)	Homens (n=33)	Mulheres (n=51)	Homens (n=52)
Hg-S	69,09 ± 52,37	86,04 ± 68,14	34,00 ± 25,60	41,92 ± 40,00
	F (n=25)	NF (n=59)	F (n=32)	NF(n=71)
Hg-S	94,61 ± 66,60	67,09 ± 54,60	32,46 ± 30,41	39,87 ± 35,55
	CBA (n=14)	NCBA (n=70)	CBA (n=18)	NCBA (n=85)
Hg-S	81,66 ± 71,00	74,46 ± 57,01	26,32 ± 20,30	39,92 ± 36,72
	Origem do Pará		Origem do Pará	
	Sim (n=55)	Não (n=29)	Sim (n=60)	Não (n=43)
Hg-S	90,44 ± 61,97*	47,28 ± 41,31	50,04 ± 38,82*	20,11 ± 16,65

F: Fumantes; NF: Não Fumantes; CBA: Consumidores de Bebida Alcoólica; NCBA: Não Consumidores de Bebida Alcoólica.

* Significativamente diferente do grupo oposto para a mesma estação (p<0,05).

O comportamento do Hg-S em relação à ocupação profissional não está descrito na Tabela 8, porém não foram observadas diferenças no teor de Hg em relação às ocupações previamente descritas nas Figuras 9A e 9B.

Além disso, para as variáveis contínuas - idade, IMC e escolaridade - o Hg no sangue se correlacionou com o IMC na estação seca ($r= 0,38$, $p=0,0001$) e com a escolaridade na estação de cheia ($r= 0,29$, $p=0,01$).

4.3 Resultados referentes aos metais essenciais, carotenóides e vitaminas no sangue dos voluntários

Na Tabela 9 são apresentados os dados descritivos e a comparação de médias (entre as estações) dos metais essenciais (Cu, Mn, Se e Zn), dos

carotenóides (β -caroteno, licopeno) e das vitaminas (A e E) no sangue dos voluntários. Desses micronutrientes, o Mn e a vitamina A não foram significativamente diferentes entre as estações de cheia e seca amazônica ($p>0,05$).

Tabela 9 - Dados descritivos e comparação de médias dos micronutrientes avaliados nas estações cheia e seca. Os metais essenciais são expressos em $\mu\text{g/L}$ e os carotenóides e vitaminas em $\mu\text{M/L}$.

	<i>Cheia (n=84)</i>			<i>Seca (n=103)</i>			<i>Teste</i>
	M $\pm$ DP	Mediana	Faixa	M $\pm$ DP	Mediana	Faixa	Mann Whitney (p)
Cu	824 $\pm$ 171	791	529-1391	953 $\pm$ 242	939	348-2314	<0,0001
Mn	25 $\pm$ 7	24	13-47	24 $\pm$ 10	22	7-60	NS
Se	318 $\pm$ 162	261	92-961	397 $\pm$ 183	344	93-1033	=0,0002
Zn	7964 $\pm$ 1951	7631	5015-13452	10646 $\pm$ 3675	10852	1294-19238	<0,0001
β-Caroteno	1,53 $\pm$ 1,14	1,14	0,25-5,53	0,40 $\pm$ 0,25	0,36	0,10-1,57	<0,0001
Licopeno	0,12 $\pm$ 0,07	0,10	0,04-0,36	0,25 $\pm$ 0,14	0,23	0,05-0,90	<0,0001
Vitamina A	1,97 $\pm$ 0,44	1,90	1,18-2,98	1,95 $\pm$ 0,51	1,89	0,64-3,23	NS
Vitamina E	21,86 $\pm$ 7,23	20,14	9,45-43,20	12,10 $\pm$ 3,14	12,00	4,02 $\pm$ 21,94	<0,0001

M: média; DP: desvio padrão; Faixa: mínimo e máximo; NS: não significativo; p: significativo quando menor que 0,05.

Já, os valores dos metais essenciais Cu, Se e Zn foram significativamente inferiores na estação cheia comparativamente aos seus valores na estação seca (Tabela 9). Na cheia amazônica, em relação ao cobre sanguíneo, 22,6 % (n=19) das pessoas apresentaram valores desse <700 $\mu\text{g/L}$, destas 14 são mulheres com valores médios do metal de 627 $\pm$ 53 $\mu\text{g/L}$ e 5 são homens com cupremia de 661 $\pm$ 25 $\mu\text{g/L}$. Ainda na estação cheia, no que concerne ao Mn, 98,8 % (n=83) dos voluntários apresentavam valores >15 $\mu\text{g/L}$. Para o Se, também na época cheia,

apenas um voluntário apresentou concentração sanguínea $<100 \mu\text{g/L}$, 67,1 % ($n=56$) tinham esse elemento na faixa de $100-340 \mu\text{g/L}$, 31,7 % ($n=27$) o apresentavam entre $341-1000 \mu\text{g/L}$ e, nenhum participante apresentou valor de Se superior à $1000 \mu\text{g/L}$. Na época cheia, em relação ao elemento químico Zn, valores $<3500 \mu\text{g/L}$ não foram detectados, enquanto 80,3% ($n=67$) e 19,7% ($n=17$) mostraram concentrações do mesmo nas categorias de $3500-9500 \mu\text{g/L}$ e $>9500 \mu\text{g/L}$, respectivamente.

Ainda, na estação cheia, o β -caroteno e a vitamina E plasmáticos foram significativamente mais elevados comparativamente a estação seca, enquanto que as concentrações sanguíneas de licopeno foram menores em relação aos valores achados na estação seca (Tabela 9). O β -caroteno plasmático foi $<0,30 \mu\text{M/L}$ em apenas um voluntário. Por outro lado, o licopeno nesse compartimento biológico foi inferior a $0,10 \mu\text{M/L}$ em 46,6% ($n=39$) dos participantes. Também na estação cheia, todos os voluntários da pesquisa apresentavam vitamina A plasmática $>0,70 \mu\text{M/L}$. Apenas duas pessoas, nessa estação, tinham vitamina E em plasma $<12 \mu\text{M/L}$.

Na estação oposta (seca amazônica), 9,7% ($n=10$) dos voluntários apresentaram hipocupremia ($\text{Cu} <700 \mu\text{g/L}$), sendo cinco mulheres (média= $610 \pm 133 \mu\text{g/L}$) e, também, cinco homens (média= $493 \pm 127 \mu\text{g/L}$). Para o elemento químico Mn em sangue, 82 % ($n=84$) dos participantes respondiam por valores $>15 \mu\text{g/L}$. Já, para o Se, 1% ($n=1$), 48,5 % ($n=50$), 48,5 % ($n=50$) e 2% ($n=2$) dos participantes tinham Se sanguíneo nas faixas $<100 \mu\text{g/L}$, $100 - 340 \mu\text{g/L}$, $341-1000 \mu\text{g/L}$ e $>1000 \mu\text{g/L}$, respectivamente. Ainda, na seca amazônica, os teores de Zn no sangue nas categorias $<3500 \mu\text{g/L}$, entre 3500 até $9500 \mu\text{g/L}$ e $>9500 \mu\text{g/L}$ foram apresentadas por 2% ($n=2$), 44% ($n=45$) e 54% ($n=56$) dos participantes, respectivamente.

Em ambas as estações, os indivíduos com hipocupremia tinham Zn sanguíneo significativamente mais elevado do que indivíduos não hipocuprêmicos. Na estação cheia, os valores médios de Zn foram de $8308 \pm 1972 \mu\text{g/L}$ e $6756 \pm 940 \mu\text{g/L}$ ($p=0,0007$) para os participantes com hipocupremia ($\text{Cu} <700 \mu\text{g/L}$) e

normocuprêmicos ($\text{Cu} > 700 \text{ } \mu\text{g/L}$), respectivamente. Na estação seca a concentração média de Zn sanguínea foi de $11083 \pm 3571 \text{ } \mu\text{g/L}$ e $6949 \pm 1916 \text{ } \mu\text{g/L}$ ($p=0,0004$) para os participantes com $\text{Cu} < 700 \text{ } \mu\text{g/L}$ e para os com $\text{Cu} > 700 \text{ } \mu\text{g/L}$, respectivamente.

Na estação seca, a vitamina A sanguínea foi similar aos valores achados na estação cheia, ou seja, $> 0,70 \text{ } \mu\text{M/L}$ em 99% ($n=102$) dos voluntários. Ao contrário o perfil de carotenóides e vitamina E na estação seca foi divergente do perfil para esses compostos observado previamente na estação cheia, sendo o β -caroteno para 32 % ($n=32$) dos participantes $< 0,30 \text{ } \mu\text{M/L}$. Já, nessa mesma estação (seca), os teores de licopeno foram para 6 % dos participantes ($n=6$) $< 0,10 \text{ } \mu\text{M/L}$. Por fim, ainda na estação seca, a vitamina E plasmática para 45,6% ($n= 47$) das pessoas foi $< 12 \text{ } \mu\text{M/L}$.

Nas Figuras 11 A, B, C e D é possível observar o comportamento sazonal dos metais essenciais em cada comunidade participante da pesquisa.

Na estação seca, a elevação da cupremia ocorreu em todas as comunidades (Figura 11A) em comparação aos valores mensurados desse metal na estação cheia. Ademais não foi evidenciada diferença significativa ($p > 0,05$), em ambas as estações, no teor desse metal no sangue dos voluntários entre as comunidades.

No tocante à concentração sanguínea de Mn (Figura 11B), somente na comunidade do LA ocorreu uma variação sazonal na referida concentração. Nessa comunidade os valores do metal foram significativamente mais pronunciados na cheia comparativamente a época seca ($p=0,04$). Os teores sanguíneos de Mn não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) entre as comunidades tanto na estação de cheia como na estação de seca.

Figuras 11 (A-D). Comportamento sazonal dos metais essenciais em cada comunidade. LA: Lago Araipá; NE: Nova Estrela; ST: São Tomé. Para todas as figuras: ■ LA □ NE □ ST. **a**: significativamente diferente de NE na mesma estação; **+**: significativamente diferente do valor achado nessa mesma comunidade na estação seca. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão.

Em relação aos valores médios de Se em sangue (Figura 11C), uma elevação em seus teores na estação seca comparativamente a cheia foi observada nas comunidades de NE e ST ($p < 0,05$ para ambas). Na comunidade do LA a concentração média desse metal observada no sangue foi similar entre as estações de coleta ($p > 0,05$). Ainda, para esse elemento é notável observar na Figura 11C que os participantes provenientes de NE apresentavam um aumento mais pronunciado do que os provenientes das outras comunidades (LA e ST) na sua concentração sanguínea na estação seca comparativamente a estação cheia. Nessa localidade, na estação seca,

para 83,3% dos participantes as determinações de Se estiveram na faixa de 341 a 1000 $\mu\text{g/L}$. Além disso, ainda na seca amazônica, 6,7% dos participantes provenientes de NE tinham Se sanguíneo $>1000 \mu\text{g/L}$. Já, em LA e ST, em ambas as estações, a maioria das pessoas apresentava Se sanguíneo na faixa de 100 a 340 $\mu\text{g/L}$.

A Figura 11D apresenta a distribuição sazonal em cada comunidade do Zn sanguíneo, o qual aumentava significativamente ($p<0,05$) em todas as comunidades na estação seca em relação à cheia. Além disso, para esse metal, em ambas as estações, não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) intercomunitária em seus teores sanguíneos.

As Figuras 12A, B, C e D mostram a distribuição dos carotenóides (β -caroteno e licopeno) e das vitaminas (A e E) no sangue dos voluntários nas comunidades integrantes da pesquisa.

As concentrações médias de β -caroteno no sangue dos voluntários foram mais elevadas na estação de cheia em comparação com a estação de seca ($p<0,05$) (Figura 12A). Essa elevação sazonalmente dependente do carotenóide no sangue dos voluntários foi observada em todas as comunidades. Na estação cheia os valores de β -caroteno foram diferentes entre todas as comunidades e os mesmos podem ser ordenados de forma decrescente e significativa da seguinte maneira: $\text{LA}>\text{NE}>\text{ST}$ ($p<0,05$). Por outro lado, na estação seca o β -caroteno sanguíneo foi significativamente mais elevado na comunidade do LA comparativamente a NE ($p=0,02$). Para a comunidade de ST os valores de β -caroteno foram similares aos valores achados no LA e em NE ($p>0,05$). Ainda, na estação seca os participantes com valores de β -caroteno inferiores a 0,30 $\mu\text{M/L}$ eram majoritariamente provenientes da comunidade de NE (56,9%), enquanto que os demais detentores dessas concentrações de carotenóide se distribuíam igualmente entre as comunidades do LA e de ST.

Figuras 12 (A-D). Comportamento sazonal dos carotenóides e vitaminas em cada comunidade. LA: Lago Araipá; NE: Nova Estrela; ST: São Tomé. Para todas as figuras: ■ LA □ NE □ ST. **a:** significativamente diferente de NE na mesma estação; **b:** significativamente diferente de ST na mesma estação. **+**: significativamente diferente do valor achado nessa mesma comunidade na estação seca. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão.

O teor de licopeno sanguíneo que sazonalmente apresentava distribuição diversa comparativamente aos demais micronutrientes demonstrou, também, tal diversidade dentro das comunidades (Figura 12B). Em todas as comunidades os valores de licopeno sanguíneo nos voluntários aumentaram na estação seca em comparação a cheia ($p < 0,05$). Nas comunidades do LA e de NE os valores do carotenóide abordado (licopeno) aumentaram cerca de duas vezes enquanto que em ST o aumento foi de cerca quatro vezes na estação seca comparativamente a estação cheia. Na estação seca os participantes da comunidade de NE foram os que apresentavam os menores teores de licopeno comparativamente as demais

comunidades participantes desta pesquisa ($p < 0,05$). Na estação seca uma ordem decrescente e significativa de concentração do licopeno sanguíneo pode ser elencada, sendo $ST > LA > NE$ ($p > 0,05$).

A vitamina A sanguínea não variou entre as estações em todas as comunidades ($p > 0,05$). Adicionalmente, independente da estação, para essa vitamina não houve diferença significativa ($p > 0,05$) em seus teores no sangue dos voluntários entre as comunidades (Figura 12C).

Por outro lado, em todas as comunidades, a vitamina E sanguínea foi reduzida em aproximadamente 50% no sangue dos participantes de todas as comunidades na estação seca em comparação a cheia (Figura 12D). Também para essa vitamina não foi evidenciada diferença significativa nos seus teores no sangue dos voluntários entre as comunidades, tanto na estação cheia como na seca amazônica ($p > 0,05$).

Na Tabela 10 os metais essenciais são relacionados com as variáveis sociais e demográficas categóricas. Na estação cheia unicamente as concentrações de Zn sanguíneo foram significativamente mais pronunciadas ($p = 0,04$) nos homens em relação às mulheres. Nessa mesma estação os teores sanguíneos dos outros metais essenciais - Cu, Mn e Se - não foram influenciados pelo gênero ($p > 0,05$). Além disso, as variáveis categóricas: hábito de fumar (F) ou não (NF), de consumir bebida alcoólica (CBA) ou não (NCBA) e de ser originário do Pará ou de outra unidade federativa não influenciavam nos valores sanguíneos de Cu, Mn, Se e Zn ($p > 0,05$).

Ainda nessa Tabela, na estação seca, os valores de Se foram maiores em fumantes comparados a não fumantes ($p = 0,02$). Os outros metais essenciais não foram diferentes nos voluntários fumantes em relação aos não fumantes ($p > 0,05$). Também na estação seca, o gênero, o hábito de consumir bebida alcoólica ou não e

a origem do Pará ou não foram variáveis categóricas que não apresentaram influência nos valores sanguíneos dos metais Cu, Mn, Se e Zn ($p>0,05$).

A ocupação profissional apresentou relação unicamente com os valores de cobre sanguíneo (dados não mostrados na Tabela 10). Além disso, tal relação foi somente observada na estação seca. Os valores de cobre sanguíneo foram mais elevados ($p=0,04$) nos voluntários que declararam acumular a profissão de agricultor e pescador comparativamente aos que não agregavam essas duas ocupações. Para os participantes que acumulavam as funções de pescador e agricultor e os que não as acumulavam, o cobre sanguíneo correspondeu a $966 \pm 104 \mu\text{g/L}$ e $947 \pm 249 \mu\text{g/L}$, respectivamente.

Adicionalmente, em ambas as estações, os metais essenciais não apresentaram correlação linear com as variáveis contínuas: idade, IMC e escolaridade (todas com $p>0,05$).

Na Tabela 11 são elencados os teores de carotenóides e vitaminas em relação às características sociais e demográficas categóricas. Nessa Tabela é possível observar que o gênero não apresentou influência nos carotenóides e vitaminas mensurados em sangue, tanto na estação cheia como na estação seca ($p>0,05$).

O hábito de fumar ou não influenciou unicamente nas concentrações sanguíneas de vitamina E na estação seca. Tal vitamina, nessa época, foi menor no sangue de fumantes (F) comparativamente aos não fumantes (NF) ($p=0,01$). Na estação cheia a vitamina E sanguínea não foi significativamente diferente ($p>0,05$) entre F e NF.

Além disso, em ambas as estações, somente o licopeno não foi diferente entre consumidores de bebida alcoólica (CBA) e não consumidores de bebida

alcoólica (NCBA) ($p>0,05$). A vitamina E sanguínea não foi diferente entre CBA em relação à NCBA somente na estação cheia ($p>0,05$). Já, para os demais micronutrientes avaliados - β -caroteno, vitamina A - e a vitamina E na estação seca o hábito de consumir bebida alcoólica ou não foi uma variável categórica importante nos seus teores sanguíneos. Os CBA tinham teores de β -caroteno inferiores aos declarantes NCBA, em ambas as estações, com $p=0,03$ na cheia, e $p=0,008$ na seca. Ao contrário, tanto na cheia como na seca, a vitamina A era mais elevada em CBA em contraposição aos NCBA ($p=0,03$ em ambas as estações). Já, a vitamina E foi significativamente menor em CBA em relação aos NCBA ($p=0,04$) na estação seca.

Tabela 10 – Comportamento dos metais essenciais (Cu, Mn, Se e Zn) em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos.

	Cheia (n=84)		Seca (n=103)	
	Mulheres (n=51)	Homens (n=33)	Mulheres (n=51)	Homens (n=52)
Cu	828 $\pm$ 199	819 $\pm$ 117	958 $\pm$ 263	944 $\pm$ 223
Mn	26 $\pm$ 7	24 $\pm$ 7	26 $\pm$ 10	23 $\pm$ 10
Se	317 $\pm$ 185	319 $\pm$ 120	411 $\pm$ 188	384 $\pm$ 176
Zn	7660 $\pm$ 1934*	8430 $\pm$ 1912	10561 $\pm$ 3559	10693 $\pm$ 3790
	F (n=25)	NF (n=59)	F (n=32)	NF (n=71)
Cu	795 $\pm$ 148	837 $\pm$ 179	948 $\pm$ 141	952 $\pm$ 277
Mn	22 $\pm$ 7	26 $\pm$ 7	24 $\pm$ 10	24 $\pm$ 11
Se	293 $\pm$ 121	329 $\pm$ 177	444 $\pm$ 184*	374 $\pm$ 177
Zn	7850 $\pm$ 1787	8015 $\pm$ 2033	11126 $\pm$ 3088	10405 $\pm$ 3890
	CBA (n=14)	NCBA (n=70)	CBA (n=18)	NCBA (n=85)
Cu	828 $\pm$ 199	819 $\pm$ 117	958 $\pm$ 263	944 $\pm$ 223
Mn	26 $\pm$ 7	24 $\pm$ 7	26 $\pm$ 10	23 $\pm$ 10
Se	317 $\pm$ 185	319 $\pm$ 120	411 $\pm$ 188	384 $\pm$ 176
Zn	7660 $\pm$ 1934	8430 $\pm$ 1912	10561 $\pm$ 3559	10693 $\pm$ 3790
	Origem do Pará (Sim ou Não)			
	Sim (n=55)	Não (n=29)	Sim (n=60)	Não (n=43)
Cu	845 $\pm$ 188	789 $\pm$ 123	992 $\pm$ 272	893 $\pm$ 182
Mn	26 $\pm$ 7	24 $\pm$ 8	25 $\pm$ 10	23 $\pm$ 10
Se	332 $\pm$ 185	290 $\pm$ 101	384 $\pm$ 177	415 $\pm$ 189
Zn	8034 $\pm$ 1936	7833 $\pm$ 2007	10770 $\pm$ 3860	10433 $\pm$ 3401

F: Fumantes; NF: Não Fumantes; CBA: Consumidores de Bebida Alcoólica;

NCBA: Não Consumidores de Bebida Alcoólica.

* Significativamente diferente do grupo oposto para a mesma estação ($p<0,05$).

Tabela 11 – Comportamento dos carotenóides (β -caroteno e licopeno) e vitaminas (A e E) em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos.

	Cheia (n=84)		Seca (n=103)	
	Mulheres (n=51)	Homens (n=33)	Mulheres (n=51)	Homens (n=52)
β-Caroteno	1,60 $\pm$ 1,12	1,42 $\pm$ 1,18	0,38 $\pm$ 0,25	0,41 $\pm$ 0,23
Licopeno	0,16 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,07	0,27 $\pm$ 0,16	0,23 $\pm$ 0,12
Vitamina A	1,90 $\pm$ 0,41	2,08 $\pm$ 0,46	1,88 $\pm$ 0,53	2,02 $\pm$ 0,47
Vitamina E	22,93 $\pm$ 7,95	20,19 $\pm$ 5,65	12,75 $\pm$ 3,51	11,46 $\pm$ 2,64
	F (n=25)	NF (n=59)	F (n=32)	NF (n=71)
β-Caroteno	1,20 $\pm$ 0,63	1,66 $\pm$ 1,27	0,39 $\pm$ 0,15	0,40 $\pm$ 0,27
Licopeno	0,09 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,08	0,25 $\pm$ 0,11	0,25 $\pm$ 0,15
Vitamina A	2,06 $\pm$ 0,42	1,93 $\pm$ 0,45	2,03 $\pm$ 0,50	1,92 $\pm$ 0,51
Vitamina E	22,51 $\pm$ 6,87	21,61 $\pm$ 7,41	10,90 $\pm$ 1,99*	12,62 $\pm$ 3,42
	CBA (n=14)	NCBA (n=70)	CBA (n=18)	NCBA (n=85)
β-Caroteno	1,00 $\pm$ 0,78*	1,63 $\pm$ 1,17	0,30 $\pm$ 0,13*	0,42 $\pm$ 0,25
Licopeno	0,11 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,07	0,21 $\pm$ 0,12	0,26 $\pm$ 0,14
Vitamina A	2,13 $\pm$ 0,46*	1,93 $\pm$ 0,43	2,15 $\pm$ 0,34*	1,90 $\pm$ 0,52
Vitamina E	19,27 $\pm$ 3,60	22,35 $\pm$ 7,65	10,57 $\pm$ 2,74*	12,42 $\pm$ 3,14
	Origem do Pará		Origem do Pará	
	Sim (n=55)	Não (n=29)	Sim (n=60)	Não (n=43)
β-Caroteno	1,52 $\pm$ 1,25	1,56 $\pm$ 0,94	0,41 $\pm$ 0,19	0,39 $\pm$ 0,29
Licopeno	0,12 $\pm$ 0,07	0,12 $\pm$ 0,06	0,30 $\pm$ 0,15*	0,19 $\pm$ 0,09
Vitamina A	1,96 $\pm$ 0,43	1,97 $\pm$ 0,46	1,99 $\pm$ 0,52	1,90 $\pm$ 0,48
Vitamina E	22,45 $\pm$ 8,17	20,79 $\pm$ 5,05	12,80 $\pm$ 3,18*	11,13 $\pm$ 2,86

F: Fumantes; NF: Não Fumantes; CBA: Consumidores de Bebida Alcoólica;
NCBA: Não Consumidores de Bebida Alcoólica.

* Significativamente diferente do grupo oposto para a mesma estação ($p < 0,05$).

A origem dos voluntários influenciou somente no licopeno e vitamina E sanguíneos mensurados na estação seca. Nessa estação os participantes nascidos no estado do Pará tinham valores do carotenóide licopeno e da vitamina E superiores (ambos com $p < 0,0001$) aos não nascidos nesse estado (Tabela 11). Na estação cheia, tanto o licopeno como a vitamina E não foram influenciados pela origem ($p > 0,05$). Já, os teores sanguíneos de β -caroteno e vitamina A não foram influenciados pelo fato de ser originário do Pará ou não, em ambas as épocas climáticas ($p > 0,05$).

Para os micronutrientes do tipo carotenóides e vitaminas, a ocupação profissional apresentava relação apenas com o β -caroteno e unicamente na estação seca (dados não mostrados na Tabela 11). O teor de β -caroteno foi menor ($p=0,01$) nos voluntários que declararam acumular a profissão de agricultor e pescador ($0,23 \pm 0,16 \mu\text{M/L}$) comparativamente aos que não agregavam essas duas ocupações ($0,42 \pm 0,24 \mu\text{M/L}$).

Da mesma maneira que para os metais essenciais, as variáveis contínuas - idade, IMC e escolaridade - não apresentaram correlação linear com os carotenóides e vitaminas aqui analisados ($p>0,05$).

4.4 Resultados referentes aos biomarcadores de estresse oxidativo

A descrição das determinações dos parâmetros de estresse oxidativo, bem como a comparação dessas determinações nas estações cheia e seca são apresentadas na Tabela 12. As concentrações de GSH e MDA e a atividade da CAT não foram significativamente diferentes ($p>0,05$) entre as épocas de coleta. Já, as atividades da GSH-Px e SOD e a atividade e reativação da ALA-D foram significativamente ($p<0,05$) mais pronunciadas na estação cheia comparativamente a seca.

Tabela 12 - Dados descritivos e comparação de médias dos biomarcadores de estresse oxidativo avaliados nas estações cheia e seca.

	Cheia (n=84)			Seca (n=103)			Teste
	M ± DP	Mediana	Faixa	M ± DP	Mediana	Faixa	Mann Whitney (p)
GSH ($\mu\text{mol/mL}$)	2,48 ± 0,45	2,54	1,27-3,34	2,60 ± 0,40	2,67	1,56-3,56	NS
CAT (k/gHb)	107 ± 477	108	31-252	100 ± 33	98	46-179	NS
GSH-Px (NADH/min/gHb)	6,97 ± 1,54	6,98	3,21-9,99	5,44 ± 1,77	4,80	2,55-10,00	<0,0001
SOD (USOD/mg Hb)	1,77 ± 0,70	1,58	0,59-3,78	1,04 ± 0,74	0,97	0,43-7,92	<0,0001
MDA (μM)	4,88 ± 1,16	4,49	2,17-13,07	5,12 ± 2,30	4,61	2,09-13,86	NS
ALA-D (UI)	10,5 ± 4,4	10,2	1,1-19,1	9,1 ± 4,6	8,9	2,0-20	=0,04
R da ALA-D (%)	40,4 ± 15,7	41,5	15-78	22,7 ± 15,8	19,1	6,4-62	<0,0001

M: média; DP: desvio padrão; Faixa: mínimo e máximo; NS: não significativo; p: significativo quando menor que 0,05.

Nas Figuras 13A-G são mostradas a ampla variação dos biomarcadores de estresse oxidativo dentro de cada comunidade.

Figuras 13 (A-G). Comportamento sazonal dos marcadores de estresse oxidativo em cada comunidade. LA: Lago Araipá; NE: Nova Estrela; ST: São Tomé. Para todas as figuras: LA NE ST. **a**: significativamente diferente de NE na mesma estação; **b**: significativamente diferente de ST na mesma estação. **+**: significativamente diferente do valor achado nessa mesma comunidade na estação seca. Os resultados são expressos como média $\pm$ desvio padrão.

Em relação à GSH (Figura 13A), unicamente na comunidade do LA a GSH foi significativamente menor na estação cheia comparativamente ao seu valor nessa comunidade na estação seca ($p < 0,05$). Nas comunidades de NE e ST o teor de GSH foi constante entre as estações ($p > 0,05$). Em ambas as estações, o referido antioxidante foi significativamente mais elevado nas comunidades de LA e ST em comparação a comunidade de NE (ambos com $p < 0,05$), conquanto entre o LA e ST não foram observadas diferenças significativas no status de GSH, tanto na cheia como na seca ($p > 0,05$).

Em relação às enzimas antioxidantes em todas as comunidades existiu diferença intersazonal e intercomunitária. No tocante a CAT (Figura 13B), no LA e em NE a atividade da mesma foi significativamente mais elevada na cheia do que na estação oposta ($p < 0,05$). Já em ST a atividade da referida enzima foi menor na estação cheia comparativamente a seca ($p < 0,05$). No tocante as variações intercomunitárias, unicamente na estação cheia a atividade da CAT foi diferente entre todas as comunidades, sendo a ordem decrescente e significativa de atividade a seguinte: LA > NE > ST ($p < 0,05$).

A enzima antioxidante GSH-Px (Figura 13C) apresentou maior atividade na estação cheia nas comunidades de LA e ST ($p < 0,05$) comparativamente aos valores medidos nessas comunidades da estação seca. Em NE, a atividade da GSH-Px foi constante entre as estações ($p > 0,05$). No que concerne à variação intercomunitária, na estação cheia a atividade dessa enzima foi mais pronunciada em LA e NE em comparação a ST ($p < 0,05$). Na estação seca a atividade da mesma foi significativamente diminuída em LA e ST em comparação a NE ($p < 0,05$).

Ainda, para as enzimas antioxidantes, a atividade da SOD (Figura 13D) foi significativamente mais exacerbada em todas as comunidades na estação cheia

comparativamente aos valores mensurados nessas na estação seca ($p < 0,05$). Particularmente, na estação cheia, a atividade enzimática foi significativamente menor em LA do que em NE e ST, respectivamente ($p < 0,05$). Na estação seca, a referida enzima apresentava atividade significativamente maior em LA e ST em relação à NE ($p < 0,05$).

A atividade da enzima ALA-D (Figura 13E) foi significativamente mais elevada em LA e NE na estação cheia em comparação a estação seca ($p < 0,05$). Na comunidade de ST, a atividade dessa enzima foi constante entre as estações ($p > 0,05$). Na estação cheia, houve diferença de atividade da ALA-D dentre as comunidades, podendo a mesma ser elencada em ordem decrescente e significativa de atividade nas comunidades da seguinte maneira: $NE > LA > ST$. Já, na estação seca a atividade desta enzima foi significativamente maior no LA e ST em comparação a NE, respectivamente ($p < 0,05$). Adicionalmente entre o LA e ST não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na atividade da referida enzima. Independente da estação, uma menor atividade da enzima foi observada em ST.

O índice de reativação da enzima ALA-D (Figura 13F) foi significativamente mais elevado na estação cheia nas comunidades de LA e ST em comparação ao índice obtido na estação seca nessas comunidades ($p < 0,05$, respectivamente). Em NE o referido índice foi constante entre as estações cheia e seca ($p > 0,05$). Em ambas as estações o índice de R da ALA-D foi diferente entre todas as comunidades ($p < 0,05$). Na estação cheia, a ordem decrescente de reativação pode ser representada por $ST > LA > NE$, respectivamente, enquanto na estação seca, o referido índice foi, também, diferente entre as comunidades e ordenado de forma decrescente da seguinte maneira: $ST > NE > LA$. Ao contrário da atividade da ALA-D, a

qual foi menor em ST tanto na cheia como na seca, a reativação dessa enzima foi mais elevada nessa comunidade em ambas as estações.

O MDA plasmático (Figura 13G) foi diferente entre as estações unicamente na comunidade de ST, sendo nessa comunidade tal biomarcador reduzido na estação cheia em comparação a estação seca ($p < 0,05$). Nas estações cheia e seca teores de MDA foram mais elevados em LA e ST (e não diferente entre essas) comparativamente a NE ($p < 0,05$, respectivamente). Consequentemente, em ambas as estações, o MDA plasmático foi menor na comunidade de NE.

Na Tabela 13 são descritos os parâmetros do estresse oxidativo avaliados em relação às características sócio-demográficas categóricas. O gênero não influenciou na determinação de nenhum dos biomarcadores de estresse oxidativo mensurados, tanto na época de cheia como na seca.

A GSH eritrocitária foi, na estação seca, diminuída em fumantes (F) comparativamente a não fumantes (NF) ($p = 0,0003$). Já, nessa estação, a reativação da ALA-D (R da ALA-D) foi significativamente mais pronunciada em F em comparação a NF ($p = 0,02$). Os teores de GSH e a R da ALA-D na estação cheia não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) entre F e NF ($p > 0,05$). Os demais biomarcadores de estresse oxidativo – CAT, GSH-Px, SOD, atividade da ALA-D e MDA – não foram influenciados pelo hábito de fumar ou não, em ambas as estações.

Em relação ao consumo de bebida alcoólica (CBA) e ao não consumo desse tipo de bebida (NCBA) unicamente o MDA plasmático na estação seca, apresentou concentrações maiores no primeiro grupo em comparação ao segundo grupo ($p = 0,01$). Os teores de MDA na estação cheia e os valores dos demais biomarcadores de estresse (GSH, CAT, GSH-Px, SOD, atividade e reativação da

ALA-D), em ambas as épocas de coleta, não foram influenciados pelo hábito de CBA ou NCBA.

No que concerne à origem, a atividade da CAT foi menor, na estação cheia, em originários do PA comparados com os indivíduos não originários dessa unidade federativa ($p=0,005$). Na estação seca a atividade dessa enzima não foi diferente entre originários e não originários do PA ($p>0,05$). Já, a GSH-Px apresentou atividade diminuída, em originários do PA comparativamente a não originários desse estado tanto na cheia ($p=0,0006$) como na seca ($p<0,0001$).

O MDA plasmático, na estação seca, nos voluntários originários do PA foi significativamente menor aos valores de MDA dos voluntários não originários desse estado brasileiro ($p=0,001$). Na época cheia não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) nos teores desse biomarcador entre nativos e não nativos do PA. A reativação da ALA-D (R da ALA-D) foi significativamente mais elevada, em ambas as estações (cheia: $p=0,04$; seca: $p=0,02$) em originários do PA comparativamente a não originários do PA.

A concentração de GSH sanguínea e a atividade da ALA-D nesse compartimento não sofreram influência da origem, em ambas as estações.

Tabela 13 – Comportamento dos biomarcadores de estresse oxidativo em relação aos parâmetros sócio-demográficos categóricos.

	Cheia (n=84)		Seca (n=103)	
	Mulheres (n=51)	Homens (n=33)	Mulheres (n=51)	Homens (n=52)
GSH	2,46 ± 0,45	2,52 ± 0,46	2,63 ± 0,37	2,55 ± 0,43
CAT	107 ± 50,0	108 ± 43,0	101 ± 33,0	100 ± 33,0
SOD	1,75 ± 0,68	1,81 ± 0,75	1,00 ± 0,28	1,06 ± 1,00
GSH-Px	6,97 ± 1,65	6,97 ± 1,34	5,23 ± 1,67	5,65 ± 1,87
MDA	4,78 ± 1,96	5,05 ± 1,76	4,98 ± 1,76	5,27 ± 2,73
ALA-D	11,0 ± 4,12	9,85 ± 4,84	9,33 ± 4,91	8,91 ± 4,47
R da ALA-D	39,6 ± 14,1	41,5 ± 18,3	23,4 ± 17,6	21,9 ± 13,9
	F (n=25)	NF (n=59)	F (n=32)	NF(n=71)
GSH	2,61 ± 0,38	2,43 ± 0,48	2,46 ± 0,41 *	2,65 ± 0,39
CAT	61,0 ± 39,0	63,0 ± 40,0	92,0 ± 26,0	86,0 ± 29,0
SOD	1,91 ± 0,84	1,71 ± 0,63	1,16 ± 1,27	0,98 ± 0,23
GSH-Px	6,99 ± 1,42	6,97 ± 1,58	5,87 ± 1,96	5,25 ± 1,66
MDA	5,32 ± 2,49	4,71 ± 1,58	4,72 ± 2,54	5,31 ± 2,17
ALA-D	9,51 ± 3,75	11,0 ± 4,65	8,82 ± 4,81	9,25 ± 4,65
R da ALA-D	44,2 ± 16,6	38,7 ± 15,2	27,5 ± 17,4 *	20,5 ± 14,6
	CBA (n=14)	NCBA (n=70)	CBA (n=18)	NCBA (n=85)
GSH	2,59 ± 0,42	2,46 ± 0,46	2,54 ± 0,41	2,60 ± 0,40
CAT	103 ± 47,0	108 ± 47,0	102 ± 33,0	95,0 ± 33,0
SOD	1,83 ± 0,71	1,76 ± 0,71	0,89 ± 0,25	1,07 ± 0,80
GSH-Px	7,32 ± 1,30	6,90 ± 1,57	5,96 ± 1,76	5,33 ± 1,76
MDA	4,57 ± 1,88	4,94 ± 1,90	4,01 ± 1,67 *	5,36 ± 2,35
ALA-D	10,6 ± 4,48	10,4 ± 4,32	9,64 ± 5,36	9,01 ± 4,55
R da ALA-D	38,4 ± 20,8	40,7 ± 14,7	17,4 ± 11,5	23,8 ± 16,4
	Origem do Pará		Origem do Pará	
	Sim (n=55)	Não (n=29)	Sim (n=60)	Não (n=43)
GSH	2,53 ± 0,45	2,39 ± 0,46	2,67 ± 0,38	2,47 ± 0,41
CAT	100 ± 50,0 *	122 ± 36,0	98,0 ± 33,0	104 ± 32,0
SOD	1,80 ± 0,71	1,72 ± 0,69	1,15 ± 0,93	0,87 ± 0,24
GSH-Px	6,55 ± 1,48 *	7,77 ± 1,30	4,88 ± 1,58 *	6,23 ± 1,75
MDA	4,88 ± 1,77	4,89 ± 2,12	5,89 ± 2,37 *	4,06 ± 1,70
ALA-D	9,87 ± 4,21	11,84 ± 4,63	8,47 ± 4,40	10,00 ± 4,95
R da ALA-D	44,9 ± 13,9 *	31,4 ± 15,6	28,1 ± 18,1 *	15,1 ± 6,5

F: Fumantes; NF: Não Fumantes; CBA: Consumidores de Bebida Alcoólica;

NCBA: Não Consumidores de Bebida Alcoólica.

* Significativamente diferente do grupo oposto para a mesma estação (p<0,05).

Na Tabela 14 são apresentadas as correlações lineares entre os biomarcadores de estresse oxidativo com os teores de Hg em sangue e variáveis sócio-demográficas contínuas. Nessa tabela é possível observar que dentre os biomarcadores de estresse oxidativo avaliados apenas a CAT não mostrou correlação com o Hg-S.

Ainda na Tabela 14 é possível observar que a concentração de GSH sanguínea, o MDA plasmático e a R da ALA-D apresentaram correlação significativa e positiva com o Hg-S em ambas as estações ($p < 0,05$). A atividade da SOD esteve correlacionada positivamente com o Hg-S somente na estação seca ($p < 0,05$). Na estação cheia a correlação entre essa enzima antioxidante e Hg-S não foram observadas ($p > 0,05$).

A Tabela 14 também mostra que as atividades da GSH-Px e da atividade da ALA-D foram negativamente correlacionadas com o Hg-S tanto na estação de cheia como de seca ($p < 0,05$).

Das variáveis sócio-demográficas contínuas mostradas na Tabela 14, a idade não mostrou correlação com nenhum dos parâmetros de estresse oxidativo analisados ($p > 0,05$).

Já para a variável contínua IMC (Tabela 14) a concentração de GSH em sangue foi positivamente correlacionada com esse índice ($p < 0,05$) na estação seca, enquanto na estação cheia tal correlação não foi observada ($p > 0,05$). A atividade da GSH-Px é negativamente correlacionada com o IMC unicamente na estação cheia e tal correlação não foi verificada na estação seca ($p > 0,05$). O MDA plasmático é positivamente correlacionado ($p < 0,05$) com o IMC, em ambas as épocas de coleta. As atividades da CAT e SOD bem com a atividade e R da ALA-D não foram correlacionadas com o IMC em ambas as épocas climáticas ($p > 0,05$).

Tabela 14 – Correlações de Spearman entre os biomarcadores de estresse oxidativo, Hg-S e variáveis sócio-demográficas contínuas.

	<i>Hg-S</i>	<i>Idade</i>	<i>IMC</i>	<i>Escolaridade</i>
GSH	0,36* 0,27**	–	0,24**	–
CAT	–	–	–	–
GSH-Px	-0,28* -0,60**	–	-0,43**	-0,24*
SOD	0,28**	–	–	–
MDA	0,25* 0,82**	–	0,31* 0,29**	–
ALA-D	-0,49* -0,27**	–	–	-0,26*
R da ALA-D	0,49* 0,22**	–	–	0,29*

* Coeficiente de correlação significativa na estação cheia ($p < 0,05$)

** Coeficiente de correlação significativa na estação seca ($p < 0,05$)

- Correlação não significativa ($p > 0,05$)

Na Tabela 14 são também mostrados que as atividades da GSH-Px e ALA-D são negativamente correlacionadas, na estação cheia, com a variável contínua escolaridade ($p < 0,05$). Na estação oposta não foram observadas correlações entre essas enzimas e os anos de escolaridade ($p > 0,05$). Ademais, a R da ALA-D é positivamente correlacionada com a escolaridade na estação cheia ($p < 0,05$) enquanto na estação seca tal correlação não foi observada ($p > 0,05$). A concentração de GSH, as atividades da CAT e SOD e os teores de MDA não foram

correlacionados ($p>0,05$), em ambas as estações, com a escolaridade dos voluntários da presente pesquisa.

Adicionalmente, na Tabela 15 são descritas as correlações lineares observadas entre os biomarcadores de estresse oxidativo e os micronutrientes avaliados.

Tabela 15 – Correlações de Spearman entre os biomarcadores de estresse oxidativo e micronutrientes.

	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Se</i>	<i>Zn</i>	<i>β-caroteno</i>	<i>Licopeno</i>	<i>Vitamina A</i>	<i>Vitamina E</i>
GSH	0,27**	-	-0,21**	-	0,21*	0,26**	-	-
CAT	-	-	-	-	-	-	-	-
GSH-Px	-	-	0,40**	0,40*	-	-0,33**	-	-0,33**
SOD	-	-	-	-	-	-	-	-
MDA	0,24**	-	-0,23* -0,27**	-	0,22**	0,43**	-	0,29**
ALA-D	-	-	-0,31**	-0,39**	-	0,33*	-	0,27*
R da ALA-D	-	-	-	-	-	0,22**	-	-

* Coeficiente de correlação significativa na estação cheia ($p<0,05$)

** Coeficiente de correlação significativa na estação seca ($p<0,05$)

- Correlação não significativa ($p>0,05$)

A Tabela 15 mostra que a GSH apresentou correlação significativa e positiva com cobre e licopeno sanguíneos na estação seca e com o β -caroteno na estação cheia ($p<0,05$). Correlações significativas da GSH o cobre e licopeno na época cheia

e com o β -caroteno durante a seca não foram observadas ($p>0,05$). Também a GSH apresentou correlação significativa e negativa com o Se sanguíneo na época de seca ($p<0,05$). Na estação oposta a GSH não apresentou correlação significativa com os teores de Se em sangue ($p>0,05$). Ainda, a GSH não apresentou correlação significativa com os metais essenciais Mn e Zn e com as vitaminas A e E em ambas as épocas de coleta ($p>0,05$).

A atividade da GSH-Px apresentou correlação positiva com o Se na estação seca e com o elemento Zn na estação cheia ($p<0,05$) (Tabela 15). Essa enzima apresentou correlação linear significativa e negativa ($p<0,05$) com o licopeno e vitamina E na estação cheia enquanto na estação de seca tal correlação não foi observada ($p>0,05$). Em ambas as estações, a GSH-Px sanguínea não foi correlacionada com os teores de Cu, Mn, β -caroteno e vitamina A ($p>0,05$).

Na Tabela 15 é possível observar que o MDA plasmático é positivamente correlacionado com os teores sanguíneos de cobre, β -caroteno, licopeno e vitamina E na estação seca ($p<0,05$). Na estação cheia essas associações do MDA não foram observadas ($p>0,05$). Ao contrário a concentração de MDA foi negativamente correlacionada com os teores de Se, em ambas as estações ($p<0,05$). Ainda, esse biomarcador de estresse oxidativo não foi correlacionado com os teores de Mn, Zn e vitamina A ($p>0,05$).

Em relação à atividade da ALA-D foi observada correlação significativa e negativa com o Se e Zn sanguíneos na estação seca ($p<0,05$) (Tabela 15). Na estação cheia a ALA-D não foi correlacionada com esses micronutrientes ($p>0,05$). Já, correlações positivas foram observadas entre a atividade da ALA-D com o licopeno e vitamina E plasmáticos na estação cheia. Na estação oposta não foi observada correlação entre a ALA-D com o licopeno e a vitamina E ($p>0,05$). Os

micronutrientes Cu, Mn, β -caroteno e vitamina A não apresentaram correlação linear com a atividade da ALA-D ($p>0,05$).

A reativação da ALA-D foi associada positivamente unicamente com os teores de licopeno ($p<0,05$) na estação seca enquanto que na estação cheia não foi observada essa correlação ($p>0,05$) (Tabela 15). Os teores de Cu, Mn, Se, Zn, β -caroteno e as vitaminas A e E não foram correlacionados com a reativação da ALA-D ($p>0,05$).

Assim, na Tabela 15 é possível observar que as atividades da CAT e SOD não mostraram correlação com nenhum dos micronutrientes avaliados. Ademais, os micronutrientes Mn e vitamina A não apresentaram correlação com nenhum dos biomarcadores de estresse oxidativo.

Com o intuito de evidenciar o possível efeito preditor do Hg-S sobre os biomarcadores de estresse oxidativo, análises de regressão múltipla foram realizadas. Para essas análises os dados sócio-demográficos relacionados ao Hg-S e aos biomarcadores de dano oxidativo foram considerados nos modelos de regressão montados.

Os resultados da regressão múltipla são sumarizados na Tabela 16.

Na referida tabela são mostrados os biomarcadores de estresse oxidativo que apresentaram correlação linear com o Hg-S. Desses biomarcadores, na análise de regressão múltipla apenas a concentração de GSH não era explicada pelo Hg-S.

Para o modelo da GSH ($R^2= 0,188$) contribuía significativamente apenas a localização comunitária e os teores de licopeno. As comunidades de LA e ST apresentaram um β estimado de 0,18 ($p<0,0001$) e -0,15 ($p=0,04$), respectivamente (dados não mostrados na Tabela 16). O fato de pertencer à comunidade de ST não contribuía para explicar a GSH sanguínea. Além da localização, as concentrações

de licopeno estiveram positivamente associadas à GSH ($\beta=0,44$, $p=0,04$). A origem, o hábito de fumar ou não, o IMC bem como os teores de Cu, Se e β -caroteno não se mostraram preditores significativos no modelo ajustado para explicar a concentração de GSH.

Tabela 16 – Resultados das análises de regressão múltipla para os biomarcadores de estresse oxidativo em relação ao Hg-S.

	<i>β estimado do Hg-S</i>	<i>p</i>	<i>R² do modelo</i>	<i>p</i>
GSH	-	NS	0,188	<0,0001
GSH-Px	-0,71	<0,0001	0,532	<0,0001
MDA	0,98	<0,0001	0,409	<0,0001
ALA-D	-1,76	=0,0002	0,214	<0,0001
R da ALA-D	1,96	=0,04	0,653	<0,0001
R ² : Coeficiente de Regressão; p: Significativo quando <0,05; NS: Não significativo.				

A atividade da GSH-Px, como mostrado na Tabela 16, apresentou uma associação negativa com o Hg-S. Além disso, contribuíram para explicar a atividade enzimática, a concentração de Se ($\beta=0,98$, $p=0,0004$) e a estação cheia ($\beta=1,12$, $p<0,0001$) (dados não mostrados na Tabela 16). A localização, a origem, o fato de fumar ou não, os teores de Zn, licopeno e vitamina E não mostraram associação com a atividade da enzima na análise de regressão.

O Hg no sangue também explica a concentração de MDA plasmático (Tabela 16). Além disso, a localização comunitária foi significativa na explicação dos teores desse biomarcador de estresse oxidativo, sendo que a comunidade de LA apresentou associação positiva com os teores do mesmo, com $\beta=0,50$ e $p=0,008$ (dados não mostrados na Tabela 16). Consoante com a localização, o β -caroteno foi também preditor do MDA, porém com uma associação negativa ($\beta=-0,31$, $p=0,04$).

Ainda na Tabela 16 são mostrados que a atividade da ALA-D apresentou uma associação negativa com a concentração sanguínea de Hg. Já a reativação da ALA-D mostrou uma associação positiva com o Hg-S. Para o modelo de explicação da atividade da ALA-D o Zn (dados não mostrados na Tabela 16), interessante, se mostrou um importante preditor negativo ($\beta=-1,76$, $p=0,0002$). Para a reativação da enzima, a estação cheia ($\beta=0,70$, $p<0,0001$) e o fato de não ser fumante ($\beta=-2,26$, $p=0,01$) se mostraram preditores positivos e negativos, respectivamente (dados não mostrados na Tabela 16).

4.5 Resultados referentes aos marcadores inflamatórios

Na Tabela 17 são sumarizados os valores da PCRus e interleucinas (10 e 6) em cada estação. Todos os marcadores de inflamação analisados não apresentaram diferenças nas concentrações sanguíneas entre as estações cheia e seca.

Tabela 17 - Dados descritivos e comparação de médias entre as estações dos marcadores inflamatórios.

	Cheia [#]			Seca [#]			Teste
	M ± DP	Mediana	Faixa	M ± DP	Mediana	Faixa	Mann Whitney (p)
PCRus (mg/L)	1,85 ± 1,01	1,90	0,22-4,00	1,88 ± 1,11	1,85	0,20-4,00	NS
IL-10 (pg/mL)	50,7 ± 12,7	44,0	39,0-81,7	49,5 ± 13,3	42,6	39,0-96,0	NS
IL-6 (pg/mL)	2,23 ± 1,15	1,89	1,02-5,57	1,73 ± 0,67	1,56	1,01-4,09	NS

M: média; DP: desvio padrão; Faixa: mínimo e máximo; NS: não significativo; p: significativo quando menor que 0,05.

[#] A PCR era avaliada em 83 e 100 participantes na cheia e seca, a IL-10 era expressa em 47 e 46 participantes na cheia e seca, a IL-6 era expressa em 51 e 45 participantes na cheia e seca, respectivamente.

* Significativamente diferente do grupo oposto para a mesma estação (p<0,05).

Adicionalmente, a concentração de PCRus sérica não apresentou correlação linear com os teores de IL-10, independente da estação do ano (p>0,05 para ambas, cheia e seca). No entanto, na estação seca a PCRus mostrou correlação linear e positiva com a concentração sanguínea de IL-6 (r=0,43, p=0,004). Na estação cheia não foi observada correlação linear significativa entre a PCRus e a IL-6.

Figuras 14 (A-C). Comportamento sazonal dos marcadores inflamatórios em cada comunidade. LA: Lago Araipá; NE: Nova Estrela; ST: São Tomé. Para todas as figuras: ■ LA □ NE □ ST. **a:** significativamente diferente de NE na mesma estação; **b:** significativamente diferente de ST na mesma estação; **+**: significativamente diferente do valor achado nessa mesma comunidade na estação seca; ****:** apenas 1 participante expressou essa IL na comunidade de NE. Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão.

A Figura 15A mostra que a PCRus apresentou variação sazonal unicamente na comunidade de ST. Já a IL-10 não apresentou variação sazonal em nenhuma das comunidades (Figura 15B) e os teores de IL-6 foram dependentes da sazonalidade em todas as comunidades (Figura 15C).

Independente da estação, a PCRus nas comunidades guardava a ordem decrescente e significativa da seguinte maneira: ST>LA>NE ($p<0,05$). Já, a IL-10 mensurada em plasma não se mostrou diferente entre as comunidades e esse fato ocorreu em ambas as estações. A IL-6 sérica apresentou variação intercomunitária apenas na estação seca, sendo essa citocina representada significativamente na seguinte ordem ST>LA>NE ($p<0,05$). Na estação cheia os teores séricos de IL-6 não

foram significativamente diferentes entre os participantes das comunidades de estudo.

Todos os marcadores inflamatórios não apresentaram relação com as variáveis sociais e demográficas categóricas gênero, hábito de fumar ou não, CBA ou NCBA, origem do PA ou não e ocupação profissional. Também, tais marcadores não apresentavam correlações lineares com as variáveis sociais e demográficas contínuas idade, IMC e escolaridade.

Como havia um significativo grupo de participantes que não expressavam as citocinas avaliadas, foram realizados, em cada estação, testes de comparação de médias para verificar se existiam diferenças entre aqueles que expressavam as citocinas e aqueles que não as expressavam. Nas Tabelas 18 e 19 são mostrados os valores de Hg-S, biomarcadores de estresse oxidativo e micronutrientes entre aqueles que expressavam IL-10 e que não expressavam (Tabela 18) e aqueles que expressavam IL-6 e que não expressavam a mesma (Tabela 19).

Em ambas as estações os participantes que expressavam IL-10 (Tabela 18) e IL-6 (Tabela 19) apresentavam Hg-S, MDA e reativação da ALA-D mais elevados do que naqueles em que essa IL não era detectada ($p < 0,05$ para ambas as estações). A atividade da GSH-Px esteve reduzida somente na estação seca nos que expressavam a referidas ILs (Tabelas 18 e 19) comparativamente aos que não a expressavam. Para nenhum dos micronutrientes - metais essenciais, carotenóides e vitaminas - foram observadas diferenças estatísticas em relação à expressão ou não das referidas citocinas.

Tabela 18 – Dados descritivos e de comparação de médias do Hg-S, biomarcadores de estresse oxidativo e micronutrientes entre os participantes que expressavam a IL-10 e os participantes que não expressavam essa interleucina. Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão.

	Cheia		Seca	
	Expressão da IL-10		Expressão da IL-10	
	Sim (n=47)	Não (n=36)	Sim (n=43)	Não (n=59)
Hg-S	110,6 $\pm$ 55,4*	28,8 $\pm$ 16,4	65,8 $\pm$ 35,4*	17,4 $\pm$ 13,4
GSH	2,29 $\pm$ 0,45	2,33 $\pm$ 0,41	2,65 $\pm$ 0,33	2,54 $\pm$ 0,45
GSH-Px	6,70 $\pm$ 1,56	7,43 $\pm$ 1,36	4,66 $\pm$ 1,29*	6,00 $\pm$ 1,87
MDA	5,33 $\pm$ 2,01*	4,20 $\pm$ 1,45	6,50 $\pm$ 2,47*	4,14 $\pm$ 1,56
ALA-D	8,86 $\pm$ 3,48*	12,9 $\pm$ 4,60	9,60 $\pm$ 5,13	8,50 $\pm$ 3,92
R da ALA-D	50,5 $\pm$ 26,6*	26,7 $\pm$ 9,6	30,8 $\pm$ 18,3*	16,8 $\pm$ 10,4
Cu	840 $\pm$ 193	803 $\pm$ 134	994 $\pm$ 266	919 $\pm$ 220
Mn	25,5 $\pm$ 7,3	24,9 $\pm$ 7,4	25,8 $\pm$ 11,2	23,3 $\pm$ 9,3
Se	314 $\pm$ 152	324 $\pm$ 177	382 $\pm$ 152	407 $\pm$ 201
Zn	8300 $\pm$ 2194	7484 $\pm$ 1454	10291 $\pm$ 3441	11094 $\pm$ 3937
β-caroteno	1,52 $\pm$ 1,20	1,53 $\pm$ 1,09	0,40 $\pm$ 0,25	0,41 $\pm$ 0,20
Licopeno	0,11 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,08	0,29 $\pm$ 0,16	0,22 $\pm$ 0,11
Vitamina A	1,98 $\pm$ 0,45	1,95 $\pm$ 0,47	2,00 $\pm$ 0,53	1,91 $\pm$ 0,49
Vitamina E	21,1 $\pm$ 7,7	22,9 $\pm$ 6,6	12,4 $\pm$ 2,8	11,9 $\pm$ 3,3

* Significativamente do grupo que não expressava a IL-10 nessa estação.

Tabela 19 – Dados descritivos e de comparação de médias do Hg-S, biomarcadores de estresse oxidativo e micronutrientes entre os participantes que expressavam a IL-6 e os participantes que não expressavam essa interleucina. Os dados são expressos como média $\pm$ desvio padrão.

	Cheia		Seca	
	Expressão da IL-6		Expressão da IL-6	
	Sim (n=49)	Não (n=33)	Sim (n=45)	Não (n=58)
Hg-S	90,9 $\pm$ 56,4*	52,0 $\pm$ 56,0	57,8 $\pm$ 39,8*	21,7 $\pm$ 18,8
GSH	2,45 $\pm$ 0,45	2,67 $\pm$ 0,40	2,49 $\pm$ 0,40	2,56 $\pm$ 0,41
GSH-Px	7,00 $\pm$ 1,56	7,43 $\pm$ 1,36	4,22 $\pm$ 1,29*	6,00 $\pm$ 1,87
MDA	5,08 $\pm$ 1,98*	4,60 $\pm$ 1,71	6,38 $\pm$ 2,53*	4,16 $\pm$ 1,52
ALA-D	7,65 $\pm$ 3,23*	12,5 $\pm$ 4,44	9,89 $\pm$ 4,13	8,43 $\pm$ 3,63
R da ALA-D	46,5 $\pm$ 22,6*	22,7 $\pm$ 10,0	28,8 $\pm$ 17,3*	14,6 $\pm$ 10,6
Cu	839 $\pm$ 181	843 $\pm$ 126	998 $\pm$ 256	938 $\pm$ 212
Mn	23,5 $\pm$ 7,6	24,7 $\pm$ 7,7	25,9 $\pm$ 11,5	23,8 $\pm$ 9,6
Se	325 $\pm$ 153	306 $\pm$ 177	380 $\pm$ 152	409 $\pm$ 183
Zn	8289 $\pm$ 2094	7664 $\pm$ 1554	10292 $\pm$ 3451	10994 $\pm$ 3627
β-caroteno	1,49 $\pm$ 1,20	1,55 $\pm$ 1,08	0,42 $\pm$ 0,29	0,40 $\pm$ 0,21
Licopeno	0,12 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,05	0,31 $\pm$ 0,19	0,25 $\pm$ 0,11
Vitamina A	1,95 $\pm$ 0,41	1,90 $\pm$ 0,40	1,99 $\pm$ 0,56	1,94 $\pm$ 0,48
Vitamina E	22,2 $\pm$ 6,7	23,0 $\pm$ 6,3	12,8 $\pm$ 2,9	11,6 $\pm$ 3,8

* Significativamente do grupo que não expressava a IL-6 nessa estação.

Acerca das correlações lineares dos marcadores inflamatórios e micronutrientes (Tabela 20), a PCRus se correlacionou unicamente com a vitamina E na estação seca ($p=0,007$). A PCRus não foi correlacionada com a vitamina E na estação cheia e com os metais essenciais, carotenóides e vitamina A em ambas as estações ($p>0,05$).

A Tabela 20 também mostra que os metais essenciais Cu e Se no sangue se correlacionaram negativamente com a IL-10, tanto na estação cheia como na época seca ($p<0,05$). Os metais essenciais Mn e Zn, os carotenóides β -caroteno e licopeno e as vitaminas (A e E) não mostraram correlação com a IL-10 sérica, em ambas as estações.

Nessa mesma tabela (Tabela 20) a correlação linear e positiva do Zn sanguíneo com a IL-6 na estação seca ($p=0,008$) é mostrada. Tal correlação não foi observada na estação cheia ($p>0,05$). Também para essa IL não foi observada correlação com os demais metais essenciais (Cu, Mn e Se), com os carotenóides β -caroteno e licopeno e com as vitaminas A e E ($p>0,05$).

Tabela 20 - Correlações de Spearman entre os marcadores inflamatórios e os micronutrientes.

	<i>Cu</i>	<i>Mn</i>	<i>Se</i>	<i>Zn</i>	β - caroteno	Licopeno	Vitamina A	Vitamina E
<i>PCRus</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,20**
IL-10	-0,31* -0,30**	-	-0,29* -0,34**	-	-	-	-	-
IL-6	-	-	-	0,40**	-	-	-	-

* Coeficiente de correlação significativa na estação cheia ($p<0,05$)

** Coeficiente de correlação significativa na estação seca ($p<0,05$)

- Correlação não significativa ($p>0,05$)

É interessante notar na Tabela 21 que dos parâmetros de estresse oxidativo, a PC_{Rus} só não se correlacionou com a atividade da CAT na estação seca e com a SOD em ambas as estações ($p>0,05$).

Já as interleucinas não apresentaram correlação com maioria dos parâmetros de estresse oxidativo. A IL-10 somente apresentou correlação negativa com a GSH na cheia e seca amazônicas ($p=0,01$ para ambas) e a IL-6 mostrou correlação positiva com o MDA na estação seca ($p=0,008$).

Tabela 21 - Correlações de Spearman entre os marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo.

	<i>GSH</i>	<i>CAT</i>	<i>GSH-Px</i>	<i>SOD</i>	<i>MDA</i>	<i>ALA-D</i>	<i>R da ALA-D</i>
<i>PC_{Rus}</i>	0,26* 0,20**	-0,29*	-0,35* -0,63**	-	0,35* 0,75**	-0,48* -0,21**	0,75* 0,28**
<i>IL-10</i>	-0,31* -0,30**	-	-	-	-	-	-
<i>IL-6</i>	-	-	-	-	0,48**	-	-

* Coeficiente de correlação significativa na estação cheia ($p<0,05$)

** Coeficiente de correlação significativa na estação seca ($p<0,05$)

- Correlação não significativa ($p>0,05$)

As análises de regressão múltipla confirmaram que apenas a concentração de PC_{Rus} era predita pelo Hg-S ($\beta=0,49$ e $p<0,0001$). O modelo de explicação dessa proteína apresentou um $R^2= 0,69$ e $p<0,0001$. Contribuíram como preditores o fato de o voluntário provir do ST ($\beta=0,19$ e $p=0,005$), a atividade da GSH-Px ($\beta=-0,09$ e $p=0,01$) e os teores de MDA ($\beta=0,07$ e $p=0,006$).

Das análises realizadas na presente pesquisa apresentaram associação com a IL-10, o Cu sanguíneo ($\beta=-10,06$ e $p=0,04$) e o fato de pertencer a ST ($\beta=1,18$ e $p=0,002$), com coeficiente de regressão do modelo igual a 0,176 e $p=0,001$.

Dos marcadores inflamatórios, a IL-6 foi a que apresentou um menor coeficiente de explicação quando foram usadas as demais variáveis do presente estudo. O coeficiente de regressão do modelo para os teores dessa IL foi de 0,08 com $p=0,03$. A estação cheia e a PCRus sérica contribuíram significativamente para a explicação desse modelo, com $\beta=0,35$ ($p=0,002$) e $\beta=0,25$ ($p=0,04$), respectivamente.

5. DISCUSSÃO

Estudos epidemiológicos relacionados aos efeitos tóxicos da exposição ao Hg apresentam inconsistentes achados e tal fato pode estar relacionado com uma modulação dietética (CHAPMAN; CHAN, 2000). Neste sentido, o presente estudo mostra a associação entre a exposição ao Hg e alguns micronutrientes bem como biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatórios em três comunidades, com diferenças de colonização e de geografia, na região do médio Tapajós, Amazônia, Brasil. Além disso, a sazonalidade e algumas variáveis de caráter social e demográficas foram consideradas durante a investigação das referidas associações.

Até onde vai nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a descrever as concentrações de carotenóides e vitaminas e a proteína C reativa em sangue em população ribeirinha do Tapajós. Além disso, a variação sazonal dos metais essenciais (Cu, Zn e Mn), dos biomarcadores de estresse oxidativo e das interleucinas em populações ribeirinhas da Amazônia nunca havia sido reportada.

As concentrações de Hg sanguíneo observadas nos voluntários avaliados nas três comunidades do presente estudo é concordante com outros estudos na região do Rio Tapajós (AKAGI et al., 1995; GROTO et al., 2010; LEBEL et al., 1998; PASSOS et al., 2007a; 2007b). A principal fonte de exposição a esse metal tóxico para a maioria dos habitantes da região amazônica, incluindo os provenientes do Tapajós, está no consumo de peixe (BARBOSA; GARCIA; SOUZA, 1997; BASTOS et al., 2006; DE OLIVEIRA SANTOS et al., 2002; DOLBEC et al., 2000, 2001; GROTO et al., 2011b; MALM et al., 1990, 1995, 2010; MAURICE-BOURGOIN et al., 2000; PALHETA; TAYLOR, 1995; PASSOS; MERGLER, 2008; PINHEIRO et al., 2000, 2006).

Por outro lado, a variação sazonal do Hg evidenciada no presente estudo é discordante de achados anteriores (DOLBEC et al., 2001; MALM et al., 2010), os quais observaram uma elevação no Hg mensurado no cabelo na estação seca. Esses estudos atribuíram tal achado como sendo em decorrência das diferentes espécies de peixes consumidas nas estações de cheia e de seca amazônica. Porém, nos estudos citados o número de participantes era menor que na presente investigação.

Dados de Hg no sangue em um número maior de pessoas na região do presente estudo, com coletas nos meses de janeiro e fevereiro – época de elevação do nível do rio Tapajós - acharam valores do metal na média de $38,6 \pm 21,7 \mu\text{g/L}$ (PASSOS et al., 2007a) enquanto que amostras sanguíneas coletadas entre os meses de junho e agosto - período de vazante do nível do rio Tapajós - apresentavam teor de Hg médio de $57,1 \pm 36,3 \mu\text{g/L}$ (PASSOS et al., 2007b). Ou seja, as épocas do ano em que esses estudos foram realizados não são compatíveis com as do nosso estudo, tornando difícil precisar o período do ano em que os valores mínimo e máximo de Hg em sangue ocorreriam naqueles estudos.

É conhecido que na região amazônica o maior potencial de metilação é propiciado pelas raízes de macrófitas ao invés da ação de outras matrizes aquáticas (COELHO-SOUZA; MIRANDA; GUIMARÃES, 2007; GUIMARÃES et al., 1998; ROULET et al., 2000). Adicionalmente, é no período das chuvas que a biomassa de macrófitas nos rios é maior, fato que favorece uma maior taxa de metilação do Hg nessa estação (COELHO-SOUZA; MIRANDA; GUIMARÃES, 2007). Essa taxa aumentada de MeHg na água pode contribuir para a elevação do Hg nos peixes e consequentemente no sangue dos habitantes da região, os quais têm o peixe como importante fonte alimentar.

Adicionalmente, foi observado que a variação de Hg-S foi dependente da localização. Valores mais baixos de Hg-S na comunidade de NE, comparativamente as demais, denotam que os participantes provenientes dessa comunidade consomem uma menor quantia de peixes. A comunidade de NE está a cerca de 8 Km do rio, fato que pode dificultar o acesso ao peixe. Além disso, na referida comunidade a maioria da sua população é de imigrantes, diferentemente das demais comunidades do nosso estudo. A origem de uma população contribui para diferenças culturais (BERÇOT, 2009; FARELLA, 2005), entre as quais os hábitos alimentares, o que pode refletir em, por exemplo, um menor consumo de peixes pelos imigrantes (PASSOS et al., 2007a) da comunidade de Nova Estrela.

Outros fatores que podem explicar essa diversidade do Hg-S em NE são as ofertas de energia elétrica constante e acesso facilitado à rodovia Transamazônica, os quais, em conjunto ou isoladamente, podem ocasionar uma diferença nos hábitos alimentares, tal como uma maior disponibilidade de outros tipos de nutrientes bem como a possibilidade de conservação dos alimentos, fatos que não ocorrem nas comunidades de beira de rio do presente estudo.

Além da estação de coleta das amostras e da procedência comunitária, os tipos de alimentos consumidos e as características sociais e demográficas das populações podem ocasionar diferenças nas mensurações de Hg-S (CASTOLDI et al., 2008; FILLION et al., 2006; PASSOS et al., 2003, 2007b). Assim, a consideração dessas características nos estudos que envolvem a avaliação de efeitos tóxicos e/ou modulação dos mesmos é de suma importância.

Os alimentos consumidos refletem em micronutrientes no organismo, tais como metais essenciais e vitaminas. A deficiência e/ou hiperconcentração destes

nutrientes está associada com diferentes patologias (GALAN et al., 2005; HAMBIDGE 2000, 2003).

Cabe destacar que a concentração sanguínea dos referidos micronutrientes pode apresentar variação entre indivíduos de diferentes regiões, tanto entre países como dentro de um mesmo país (GIL et al., 2006; GOULLÉ et al., 2005; KOUREMENOU-DONA et al., 2006; KRISTIANSEN et al., 1997; KUCERA et al., 1995; MINOIA et al., 1990; MORENO et al., 1999; NUNES et al., 2010; TEMPLETON; SUNDERMAN; HERBER, 1994). Portanto, identificar os valores de referência de metais essenciais e vitaminas em sangue associados a uma determinada população, bem como possíveis deficiências ou hipervitaminoses é de fundamental importância. Tal identificação é ainda mais importante, considerando que alguns micronutrientes poderiam modular a toxicidade de agentes tóxicos, tal como o Hg.

A dinâmica nas concentrações sanguíneas dos metais essenciais (Cu, Se e Zn), dos carotenóides e da vitamina E vem a confirmar, que além da frequência de consumo alimentar divergir entre as épocas anuais (PASSOS et al., 2001), essa pode influir na quantidade de micronutrientes mensurados no sangue na região amazônica.

A sazonalidade amazônica, a qual está diretamente associada ao nível dos rios, interfere na oferta alimentícia de diferentes origens, tais como a aquática, a florestal, as agricultáveis e, até nos alimentos industrializados (LEBEL et al., 1997; PASSOS et al., 2001). Por exemplo, Passos et al. (2001) mostraram que o consumo de feijão pela população decai significativamente na época de cheia, e esse alimento é uma importante fonte de Cu e Zn para a população da região (NARDI et al., 2009) e tal fato pode ser um dos contribuintes para uma diminuída mensuração desses

elementos na estação citada. Adicionalmente, independente da estação, nossos achados mostram que tanto as fontes de Cu como de Zn parecem ser uniformes entre as comunidades.

Em relação à variação sazonal do Se, nossos achados não estão de acordo com Lemire et al. (2009), os quais, embora não encontrando diferença sazonal significativa no Se em sangue, esses foram, em geral, mais pronunciados na época de elevação do nível do rio Tapajós. Entretanto, segundo esses mesmos autores, em alguns casos a elevação de selênio não foi observada em todas as comunidades na época de cheia. No presente estudo, para todas as comunidades avaliadas os maiores teores de Se no sangue foram encontrados na estação seca. Assim, tais observações comprovam que a disponibilidade de alimentos ricos em Se e os hábitos de consumo desses são diversos nas comunidades ribeirinhas (LEMIRE et al., 2006, 2009).

Altas concentrações de Se são encontradas em diferentes alimentos consumidos nesta região. Incluem-se aí a castanha do Pará, ovos, peixes, carne de frango, carne seca e a carne de caça (LEMIRE et al., 2010a). No entanto, a quantia de Se nesses alimentos não é constante (DÓREA et al., 1998, LEMIRE et al., 2010a), podendo refletir em variações de Se no sangue entre as diferentes comunidades e, até mesmo, dentro dos habitantes de uma mesma comunidade (LEMIRE et al., 2006).

Na linha de micronutrientes, os carotenóides em sangue são considerados marcadores do consumo de frutas e vegetais em estudos epidemiológicos (CASTENMILLER; WEST, 1998; OLMEDILLA et al., 1994, 1997; SCOTT et al., 1996; THURNHAM; NORTHROP-CLEWES; CHOPRA, 1998). Além disso, o consumo desses alimentos é dependente da sazonalidade, o que repercute no

conteúdo de carotenóides plasmáticos (AL-DELAIFY et al., 2004). Na região amazônica, embora as mudanças ecossistêmicas ocasionadas pela inundação, no período da cheia dos rios, seja um fator que prejudique o acesso às frutas (MURRIETA et al., 1998), esse parece não ter efeito no acesso aos frutos e vegetais ricos em β -caroteno e vitaminas em todas as comunidades. Por outro lado, o acesso a alimentos fonte de licopeno é prejudicado na referida estação.

Na Amazônia Brasileira existe uma variedade enorme de fontes de carotenóides e vitaminas, tais como frutas, leguminosas e alimentos de origem animal (SANTOS et al., 1997). Além disso, a frequência de consumo desses alimentos ao longo do ano é considerável em ribeirinhos do Rio Tapajós (PASSOS et al., 2001), embora as espécies sejam variáveis. Mesmo que não existam dados do perfil quantitativo acerca do teor de carotenóides e vitaminas nos alimentos provenientes da região, é possível propormos que tais micronutrientes são fornecidos de maneira diferente nas comunidades da presente pesquisa.

Ainda em relação à dieta na região, os peixes podem tornar-se um agente paradoxal, uma vez que podem ser a via de exposição ao Hg e, ao mesmo tempo conter nutrientes importantes, tais como Se (GROTTO et al., 2011b; LEMIRE et al., 2010a), proteínas, ômega 3 (CLARKSON, 2002) e vitamina E (AFONSO et al., 2008).

Os maiores teores de vitamina E no sangue dos voluntários nas comunidades de ST e LA correspondem à época em que foram mensurados os maiores valores de Hg no sangue, podendo nessas comunidades o peixe ser uma importante fonte daquela vitamina. No entanto, na comunidade de NE, onde o Hg-S foi menor, a vitamina E não seguiu essa regra e, ainda, tal micronutriente comportou-se como nas demais comunidades. Com base nesses achados acerca do teor de vitamina E

entre as comunidades, algumas suposições podem ser adicionadas: i) Na comunidade de NE pode existir uma fonte dessa vitamina diversa das outras comunidades e essa fonte é dependente da sazonalidade, ou ii) nas três comunidades a fonte da referida vitamina é a mesma, não sendo exclusivamente o peixe, e essa fonte está disponível na cheia e não na seca.

Os valores de cobre sanguíneo achados na população são, em ambas as estações, concordantes com outros estudos na região amazônica (RODRIGUES et al., 2009), e em outras regiões do Brasil (NUNES et al., 2010) e, do mundo (ALIMONTI et al., 2005; BOCCA et al., 2011; MINOIA et al., 1990; ROSBORG et al., 2007). Embora a hipocupremia seja uma condição rara, no presente estudo a mesma foi evidenciada. É conhecido que a elevação no Zn sanguíneo pode estimular a síntese de metalotioninas, as quais têm uma alta afinidade pelo cobre e, nas células intestinais essa afinidade resulta em decréscimo da absorção de Cu (ARVANITIDOU et al., 2006), fato que pode contribuir para a hipocupremia observada na região.

No tocante aos outros metais essenciais investigados, o Mn foi substancialmente mais elevado do que em outros locais do Brasil e do mundo (ALIMONTI et al., 2005; BÁRÁNY et al., 2002; BARCELOUX, 1999; BOCCA et al., 2011; GOULLÉ et al., 2005; MINOIA et al., 1990; NUNES et al., 2010). Além disso, os teores de Mn sanguíneos achados na região de estudo são superiores à faixa de normalidade de 6,0 a 15 µg/L (BARCELOUX, 1999). Nunes e colaboradores (2010), em um estudo com 1125 amostras provenientes de diferentes estados do Brasil encontraram valores na entre 6,9 e 10,8 µg/L de Mn em sangue para os estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Goiás e Minas Gerais. Nesse mesmo estudo, para o

estado do Pará os valores transitavam na faixa de 9,1 a 18,4 µg/L, porém, a região do Pará e a época da coleta de amostras não foram informadas.

Na região do presente estudo, para o conteúdo dos alimentos da dieta regional, não existem dados acerca do Mn. No entanto, alimentos ricos em Mn, como legumes e castanhas, integram com frequência relevante a dieta regional ao longo do ano (PASSOS et al., 2001) e, podem contribuir para os valores elevados e constantes do metal na população.

Assim como já vem sendo observado nos habitantes da região do Rio Tapajós - porém em comunidades diferentes das da presente pesquisa - o conteúdo de Se sanguíneo nessa população é alto (LEMIRE et al., 2006, 2009) comparado a outras regiões do Brasil e do exterior (BÁRÁNY et al., 2002; BOCCA et al., 2011; GOULLÉ et al., 2005; NUNES et al., 2010). No entanto, os valores altos achados no presente estudo não ultrapassaram (com exceção de duas pessoas) o limite máximo tolerável em que não se observam efeitos tóxicos do Se, o qual é de até 1000 µg/L (USEPA, 2002). Além disso, apenas uma pessoa em cada estação teve Se sanguíneo menor que 100 µg/L, valor considerado abaixo do normal em várias populações (RYAN; TERRY, 1996), porém, nesses dois voluntários o Se esteve acima de 44 µg/L, valor que é caracterizado como deficiência (INSTITUTE of MEDICINE, 2000).

Em relação ao Zn, os estudos epidemiológicos mundiais, em geral, evidenciam valores desse metal em sangue que variam de no mínimo 3900 µg/L até 9102 µg/L (ALIMONTI et al., 2005; BOCCA et al., 2011; MORENO et al., 1999; ROSBORG et al., 2007). Na região do presente estudo, uma faixa mais ampla (3518-12294 µg/L) já foi observada em estudo anterior (RODRIGUES et al., 2009). No nosso estudo, na estação cheia, a maioria (80,3%) dos voluntários apresentou

concentrações sanguíneas de zinco dentro de uma faixa de concentração do metal encontrada mundialmente. Porém, na estação seca, um maior número de participantes (54%) apresentou concentrações sanguíneas de Zn superiores ao que é comumente reportado, ou seja, os valores foram superiores a 9500 µg/L.

Para o β-caroteno, os valores encontrados nos voluntários, na estação cheia, foram substancialmente superiores aos achados em outros países (GALAN et al., 2005; OLMEDILLA et al., 2001), e em outras regiões do Brasil (ROEHRS et al., 2011). Para a região amazônica são escassos os trabalhos que compilam os carotenóides no sangue de adultos. Um trabalho de 1981, realizado na região urbana de Manaus, encontrou valores de β-caroteno >40 µg/dL (ou 0,74 µM/L) em 50 % dos participantes daquele estudo (MARINHO et al., 1981).

Já, os valores de licopeno encontrados no presente estudo foram inferiores aos achados em outros estudos realizados tanto com populações fora do Brasil (ABIAKA; OLUSI; SIMBEYE, 2002; ITO et al., 1990; OLMEDILLA et al., 2001), bem como com brasileiros residentes em outras regiões do país (ROEHRS et al., 2011). Porém, como não existem valores de referência estipulados para o licopeno no sangue, o valor de 0,10 µM/L foi definido pelo nosso grupo como um limite mínimo, uma vez que esse foi o valor mais baixo encontrado na população dos Estados Unidos durante um estudo que objetivou estabelecer valores de referência para componentes nutricionais no sangue daquela população. (NHANES, 2001-2002).

Com relação aos compostos vitamínicos avaliados, a Organização Mundial da Saúde (OMS) define faixas de deficiência (<0,35 µM/L) e deficiência incipiente (0,35 - 0,70 µM/L) de vitamina A no plasma (WHO, 1997). No presente estudo apenas um dos voluntários apresentou concentração de vitamina A na faixa de deficiência incipiente. Para os demais, independente da estação, os valores estiveram acima de

0,70 $\mu\text{M/L}$ e, concordantes com estudos epidemiológicos realizados em outros países (ABIAKA; OLUSI; SIMBEYE, 2002; ITO et al., 1990; WINKLHOFFER-ROOB; VAN'T HOF; SHMERLING, 1997). Já, no Brasil, a hipovitaminose A é constantemente reportada em diferentes regiões, inclusive na amazônica (ALENCAR et al., 2002; GERALDO et al., 2003; MELO et al., 2004; PINHEIRO et al., 2011).

Pinheiro e colaboradores (2011) verificaram o status da vitamina A em indivíduos provenientes das cinco regiões do Brasil e reportaram média dessa vitamina abaixo dos valores de referência na região norte. Porém, nesse estudo não foi especificado o local do norte onde as amostras foram coletadas. Conquanto, no Rio Grande do Sul, em um trabalho que avaliava essa vitamina (pela mesma metodologia do presente estudo) em um grupo, embora pequeno ($n=20$) de indivíduos saudáveis foram achados valores médios da mesma de $2,41 \pm 0,12 \mu\text{M/L}$ (ROEHRS et al., 2009), compatíveis com os valores evidenciados nesta pesquisa.

As variáveis sócio-demográficas podem interferir em alguns micronutrientes.

A relação das concentrações sanguíneas de Cu e de Zn com a idade é contraditória na literatura. Existem estudos, como o nosso, que apontam uma não influência da idade nas concentrações sanguíneas destes metais (ALIMONTI et al., 2005; BOCCA et al., 2011), enquanto outros mostram aumento (MILNE et al., 1996) e ainda, diminuição do Cu (NUNES et al., 2010) e do Zn (HAASE; RINK, 2009) com o envelhecimento. Existem ainda, grupos de pesquisa (BAIERLE et al., 2010; KOREMENOU-DONA et al., 2006; RODRIGUES et al., 2009), que encontraram uma correlação positiva entre os teores de Cu e a idade como sendo exclusiva para as mulheres. A não observância de tal associação, seja positiva ou negativa, no presente estudo pode ter ocorrido pelo fato da grande maioria dos participantes ser

de faixas etárias jovens (18-24 e 25-34 anos). Entretanto, um número maior de participantes de idades mais elevadas poderia mostrar alterações nas concentrações de Cu ou Zn sanguíneas em relação à idade (SÁNCHEZ et al., 2010).

Ao contrário do Cu e Zn, para os metais Mn e Se, e para as vitaminas A e E, dados como os observados no presente estudo, ou seja, a inexistência de relação das suas concentrações em sangue com a idade é o achado mais comum e globalmente aceito (BOCCA et al., 2011; BURRI; HALDIMANN; DUDLER, 2008; LEMIRE et al., 2006; NHANES 2001-2002; SÁNCHEZ et al., 2010). Já, para os carotenóides, o β -caroteno é, em geral, mais alto em pessoas com idade ≥ 60 anos, enquanto o licopeno foi mais baixo em pessoas da faixa etária elencada anteriormente (NHANES 2001-2002). Assim, como a relação desses micronutrientes com o gênero, a associação dos mesmos com a idade é intensamente dependente de outras covariáveis. Nessas covariáveis incluem-se o estilo de vida, como por exemplo, o hábito de fumar, consumir bebida alcoólica, a migração e a ocupação profissional.

O processo inflamatório, o estresse oxidativo e a possível diminuição da ingestão alimentar em fumantes podem desencadear uma elevação no status de Cu (NORTHROP-CLEWES; THURHAM, 2007) e diminuição no Se, β -caroteno e licopeno sanguíneos (DIETRICH et al., 2003; KOCYIGIT; EREL; GUR, 2001). Também a biodisponibilidade diminuída tanto de vitamina A quanto de β -caroteno já foi relatada como prejudicada pelo hábito de fumar (NORTHROP-CLEWES; THURNHAM, 2007). Além disso, alguns componentes do cigarro podem intervir no conteúdo de metais essenciais no sangue. Por exemplo, o Mn e o chumbo (Pb) presentes no cigarro podem, respectivamente, desencadear o aumento de Mn (CRUMP, 2000) e Se sanguíneo (MASSADEH et al., 2010). Já, o cádmio (Cd)

presente no referido cigarro pode desencadear uma diminuição do Zn (ANETOR et al., 2008; PERAZA et al., 1998) e do Mn (LEWIS, 1972). No entanto, da mesma maneira que nossos achados, estudos prévios não têm encontrado variabilidade no Cu, Mn, Zn, β -caroteno, licopeno e vitamina A sanguíneos (BOCCA et al., 2011; GALAN et al., 2005; SÁNCHEZ et al., 2010) em relação ao hábito de fumar. Nós hipotetizamos, assim como Sánchez et al. (2010) que a quantia de cigarros fumados possa refletir nas diferentes conclusões dos estudos acerca dessa questão. O questionamento acerca do número de cigarros consumidos ao dia, bem como a dosagem de cotinina, não foram realizados na presente pesquisa.

Diferentemente de outros estudos que relatam diminuição (GALAN et al., 2005; KOCYIGIT; EREL; GUR, 2001) ou inalterabilidade (BORAWSKA et al., 2004; LEMIRE et al., 2006) do Se sanguíneo em fumantes comparativamente aos não fumantes, o nosso estudo mostrou um aumento do Se em fumantes e essa observação foi dependente da sazonalidade. Como mencionado anteriormente, MASSADEH e colaboradores (2010) afirmam que o Pb do cigarro pode interagir com selenoproteínas dos eritrócitos e retê-las nesse compartimento ocasionando um aporte maior de Se sanguíneo em indivíduos com o hábito de fumar.

Um aumento da vitamina E em fumantes, dependente da sazonalidade foi também, por nós, verificado. A influência do hábito de fumar sob o aporte de vitamina E no sangue é bastante contraditória na literatura. Alguns estudos não observaram alterações no status de tocoferóis, seja total como de frações, associadas ao tabagismo (ASCHERIO et al., 1992; MARANGON et al., 1998; STRYKER et al., 1988). Outros ainda, verificaram um decréscimo da vitamina em indivíduos fumantes (BOLTON-SMITH et al., 1991; MEZZETTI et al., 1995; WEI; KIM; BOUDREAU, 2001). Nossos achados vão ao encontro de um terceiro grupo, o

qual relata um aumento da vitamina E, que pode ocorrer devido ao dano oxidativo pronunciado pelo cigarro (ABIAKA; AL-TOBI; JOSHI, 2008; CHALMERS, 1999).

O consumo de bebida alcoólica, a qual acarreta disfunções no sistema neuroendócrino e hepático, é uma variável que pode diminuir o Cu (FIELDS; LEWIS, 1990) e o Se sanguíneos (BERGHEIM et al., 2003; BORAWSKA et al., 2004) ou aumentar a concentração de Mn nesse compartimento (KRIEGER et al., 1995; SASSINE et al., 2002). Para o Zn, uma acentuada excreção renal desse já foi associada com o consumo de bebida alcoólica (KING, 2000). Ainda, outros estudos apontam uma possível facilitação do etanol no transporte do Mn, via barreira hematoencefálica, o que pode explicar a diminuição desse metal no sangue (BOCCA et al., 2011).

Ademais, a fonte de produção da bebida alcoólica, seja a uva, cereais ou outras, pode ocasionar um aporte adicional de cobre no sangue (BOCCA et al., 2011), Se (KAFAI; GANJI, 2003) e Zn (LÓPEZ-ARTÍGUEZ et al., 1990). No entanto, em concordância com outros estudos (BOCCA et al., 2011; PARKER et al., 1989; SÁNCHEZ et al., 2009) não observamos associação entre os teores de Cu, Mn, Se e Zn e o consumo ou não de bebida alcoólica.

Em contraposição, mesmo com um número pequeno de declarantes consumidores de bebida alcoólica, esse fato foi uma co-variável importante para os teores de β -caroteno e das vitaminas A e E.

Independente da época do ano, o decaimento observado do β -caroteno plasmático em consumidores de bebida alcoólica corrobora com a maioria dos estudos recorrentes a esse tema (ALBANES, et al., 1997; GALAN et al., 2005; LECOMTE et al., 1994; SIMONETTI et al., 1993). Tal diminuição do carotenóide em sangue pode ser devido ao excesso de radicais livres decorrentes da presença do

etanol no organismo (SIMONETTI et al., 1993) Outra base de sustentação para a diminuição observada do β -caroteno é a interferência do etanol nos parâmetros farmacocinéticos desse carotenóide (GOODMAN; METCH; OMENN, 1994; GOODMAN et al., 1996; KESSE et al., 2001).

Embora alguns estudos apontem uma maior biodisponibilidade sanguínea das vitaminas A e E em consumidores de bebida alcoólica (CBA) comparativamente aos não consumidores de bebida alcoólica (NCBA) (KESSE et al., 2001), no nosso estudo esse fato foi observado unicamente para a vitamina A, tanto na cheia como na seca amazônica. Para a vitamina E, na estação em que seus teores foram menos pronunciados, o consumo de etanol foi uma co-variável que contribuía para o decréscimo desse antioxidante. Essa observação é ancorada na literatura (BERGHEIM et al., 2003; MANARI; PREEDY; PETERS, 2003).

No tocante a origem, os participantes do estudo ou são naturais da região ou residem, no mínimo, há 14 anos nessas localidades. Uma vez que a dosagem dos micronutrientes indica exposição recente, a origem poderia influenciar nesses elementos de maneira que, por exemplo, os hábitos alimentares e de estilo de vida dos originários e não originários do Pará (PA) fossem diversos.

Em nosso estudo, foi observada uma diferença associada à origem do indivíduo nos teores de licopeno e na vitamina E, e tal associação foi exclusiva na estação de seca. Uma vez que não foi avaliada frequência de consumo alimentar, para detectar possíveis diferenças de hábitos, não é possível assegurar qual tipo de alimento nessa estação esteja associado ao menor aporte da vitamina e carotenóide mencionado.

O tempo de residência na região pode contribuir para a homogeneidade de hábitos alimentares e, como consequência uma não diferença quantitativa em termos

de micronutrientes. Outro fator que também pode refletir nessa homogeneidade é o fato de que a maioria dos imigrantes provinha do nordeste brasileiro, os quais têm vários costumes alimentares similares aos habitantes do norte do Brasil (FARELLA, 2005).

Cabe também ressaltar que a atividade física pode ocasionar redistribuição e mudanças de componentes nutricionais no sangue (GLEESON; ROBERTSON; MAUGHAN, 1987; NASOLODIN; GLADKIKH, 2007; PINCEMAIL et al., 1988; TIIDUS; HOUSTON, 1993). A elevação no cobre e decréscimo do β -caroteno sanguíneos em comunitários que desempenham conjuntamente as profissões de pescador e agricultor pode ser devido a maior atividade física exigida por esse grupo.

Os praticantes desse tipo de atividade podem ter elevação do Cu sanguíneo, porém a intensidade da atividade física é algo que deve ser considerado para se observar ou não alterações na concentração do metal no organismo (SÁNCHEZ et al., 2010). Já, a causa de decréscimo do β -caroteno está associada à oxidação da LDL - lipoproteína que o transporta - em resposta a produção de RLs causada pela atividade física (AGUILÓ et al., 2003; PARTHASARATHY et al., 2000; ZIOUZENKOVA et al., 1996).

Adicionalmente, a protuberância na cupremia e deficiência de β -caroteno no grupo de pescadores e agricultores ocorreram na estação seca, época em que para as atividades agrícolas e pesqueiras regionais um maior esforço físico é exigido.

Adicionalmente, na presente investigação foram avaliadas moléculas sensíveis ou indicativas da presença de dano oxidativo (GSH, as enzimas antioxidantes - CAT, GSH-Px e SOD -, MDA, atividade e reativação da ALA-D). Posteriormente, foi investigado o possível efeito modulador dos micronutrientes também provenientes da dieta alimentar e das características sociais e demográficas sob os biomarcadores de estresse oxidativo e Hg-S.

Em estudos acerca da exposição ao Hg, os valores de GSH em sangue não apontam para uma única direção. Um abrandamento nas concentrações de GSH em resposta a um adicional conteúdo de Hg, em diferentes bioindicadores, foi registrado por nosso grupo (GROTTO et al., 2010). Por outro lado, um aumento na concentração de GSH sanguínea durante a exposição ao Hg é reportado por outros grupos de pesquisa, os quais veiculam o achado a mecanismos celulares compensatórios de caráter autoprotetor (CHEN et al., 2005; PINHEIRO et al., 2008), ou a co-variáveis associadas (BÉLANGER et al., 2008a) ou, ainda, a inibição da GSH-Px (DRINGEN; HIRRLINGER, 2003).

Consoante com a relação de oposição nos achados para os teores de GSH no sangue, as atividades das enzimas com propriedades antioxidantes nesse compartimento, CAT e SOD, também guardam essa relação (ABDEL-HAMID; FAHMY; SHARAF, 2001; ARIZA; BIJUR; WILLIAMS, 1998; BULAT et al., 1998; CHEN et al., 2005; GROTTO et al., 2010, 2011a; HUSSAIN et al., 1999; PINHEIRO et al., 2008).

No presente estudo, modelos de regressão múltipla demonstraram que o Hg não apresentou relação com a concentração de GSH e as atividades da CAT e SOD. Essas últimas estiveram mais pronunciadas na estação cheia. No entanto, como o Hg não mostrou ser preditor das suas atividades supõe-se que algum agente indutor das mesmas, dependente da localização, e não avaliado neste estudo poderia contribuir para as induções enzimáticas referidas.

Já para a GSH, o teor de licopeno apresentou uma associação positiva com suas concentrações. Até o momento, nosso trabalho é o primeiro que evidencia os efeitos dos carotenóides em biomarcadores de estresse oxidativo, sob uma ótica epidemiológica no contexto de exposição ao Hg. Além disso, também, poucos estudos *in vivo* e *in vitro* têm demonstrado a relação de diferentes carotenóides com

a GSH, enzimas antioxidantes e MDA (ANDERSEN; ANDERSEN, 1993; AUGUSTI et al., 2007, 2008; SILVA; ANTUNES; BIANCHI, 2001).

O importante potencial antioxidante do licopeno (FONTANA et al., 2001) pode estar funcionando como um agente mantenedor dos teores de GSH (ATESSAHIN et al., 2005), frente as variáveis exposições ao Hg observadas na presente pesquisa. Além disso, essa função benéfica do licopeno frente à GSH parece ser independente da concentração plasmática do carotenóide, uma vez que o teor de tiol era constante e o licopeno variável no sangue dos voluntários quando as estações anuais eram comparadas.

Outro clássico antioxidante avaliado na presente pesquisa foi a atividade da GSH-Px, que embora apresentasse atividade maior na estação cheia (com valores de Hg mais pronunciados), os modelos de regressão múltipla mostraram uma redução na atividade da mesma associada à exposição ao Hg. Essa associação negativa pode ser vista como um reflexo da conhecida conjugação do Hg com o Se (essencial para a atividade da enzima), o que subtrai a quantia do último e, consequentemente a atividade da referida enzima (SUZUKI; SASAKURA; YONEDA, 1998; GROTTTO et al., 2010). Também uma modificação estrutural da enzima provocada diretamente pelo Hg (BÉLANGER et al., 2008a) pode funcionar com um adjuvante na diminuição da atividade enzimática.

O Se esteve positivamente associado à GSH-Px, pois como mencionado, é essencial para a ação da mesma (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). Porém, mesmo em altas concentrações - como os observados na região do Rio Tapajós - esse metal essencial não é totalmente eficaz para manter a atividade da enzima constante entre as estações. A ação direta do Se sobre a GSH-Px parece mesmo depender primeiro da exposição ao Hg, que quando menor, como a evidenciada nos

habitantes da comunidade de NE, refletia em uma atividade da GSH-Px constante, independente da quantia de Se presente.

Além das associações negativa e positiva do Hg e Se, respectivamente, na atividade da GSH-Px, nos modelos de regressão múltipla a estação cheia era uma co-variável que favorecia o aumento da atividade enzimática. Neste sentido, acreditamos que algum fator, seja micronutriente ou outra característica não avaliada por nós, e presente na estação cheia possa contribuir para a elevação da atividade da GSH-Px, mesmo com o Hg influenciando negativamente na referida atividade.

Além do status antioxidante, a presença de Hg pode interferir na peroxidação lipídica. Ratos tratados com ração fabricada a partir de peixes oriundos da região do nosso estudo apresentaram um significativo aumento do MDA plasmático (GROTTO et al., 2011b). Além disso, o tratamento de animais com Hg também induziu exacerbação no teor de MDA (FARINA et al., 2004; GROTTO et al., 2009b; VALENTINI et al., 2009). No presente estudo os valores elevados de MDA estiveram associados ao Hg, no entanto, tal elevação não era estação dependente, mesmo com a concentração de Hg em sangue dependente da época do ano.

A atenuação na elevação do MDA pode ser devida ao efeito positivo do β -caroteno, o qual era o único micronutriente que guardou associação com os teores de MDA. Estudos com animais expostos ao Hg não mostraram relação do β -caroteno com o MDA (AUGUSTI et al., 2007, 2008) ou apontaram comportamentos diferentes para o α e o β caroteno (ANDERSEN; ANDERSEN, 1993) frente ao Hg. No entanto, Bélanger e colaboradores (2008a), em um estudo epidemiológico de exposição ao Hg, observaram que um aumento na concentração de β -caroteno contribuía para uma menor taxa de oxidação do LDL. De forma interessante, o

carotenóide em questão apresentava, no nosso estudo, na estação cheia, o dobro de concentração do que na estação seca, e esse fato pode estar contribuindo para a não elevação do MDA, mesmo com acentuado aumento do Hg nessa estação.

Além dos biomarcadores clássicos de estresse oxidativo, na presente investigação a atividade e reativação da ALA-D também apresentaram alterações consoantes com a exposição ao Hg. A enzima ALA-D apresenta grupos tiólicos, os quais são altamente sensíveis ao dano oxidativo com consequente inibição da atividade enzimática, podendo sua atividade ser associada com outros biomarcadores do estresse oxidativo (DA SILVA et al., 2007; PEROTTONI et al., 2004; VALENTINI et al., 2007, 2008, 2009). Estudos com animais mostraram inibição da atividade da mesma após a exposição ao Hg (AUGUSTI et al., 2007, 2008; FARINA et al., 2004; NOGUEIRA et al., 2003; VALENTINI et al., 2009). No entanto na investigação de Grotto et al. (2011b) não foram observados efeitos sobre a referida enzima decorrentes da exposição ao Hg.

Um declive na atividade da ALA-D sanguínea já foi verificado por nosso grupo de pesquisa em ribeirinhos da região do médio Tapajós (GROTTO et al., 2010). Adicionalmente, no modelo de regressão múltipla a sazonalidade não foi uma co-variável associada com a atividade da ALA-D. Nesse modelo, um importante preditor negativo da atividade dessa enzima foi o elemento químico Zn. É conhecido que o Hg desloca esse metal essencial do centro alostérico da ALA-D (NOGUEIRA et al., 2003) reduzindo, assim, a sua atividade.

A reativação da ALA-D pode ser usada em estudos clínicos e epidemiológicos para avaliar a ação da condição oxidante crônica sobre os grupos -SH da enzima (GONÇALVES et al., 2005; GROTTO et al., 2010; VALENTINI et al., 2007, 2008). A associação aqui observada entre o referido índice e a exposição ao Hg indica que os

grupos -SH da ALA-D são, ao menos, em parte alvos da ação oxidante do Hg. Adicionalmente, o fato de fumar contribuía para essa inibição, uma vez que os RLS produzidos pelo cigarro podem oxidar os grupos -SH da enzima (HEINEMANN; SCHIEVELBEIN; EBER, 1982).

Neste estudo também foram avaliados três marcadores de inflamação. Nessa linha de processo inflamatório, para o nosso conhecimento, um único estudo avaliou a PCR após a exposição ao Hg via amálgama dentário e, naquele trabalho, a proteína em questão não sofreu alteração (SANDBORGH-ENGLUND; GEIJERSSTAM; LOFTENIUS, 2003).

O processo inflamatório crônico está envolvido em distúrbios que envolvem o sistema cardiovascular (LIUZZO et al., 1994, RIDKER et al., 2000). Ademais, alterações nesse sistema estão associados com a exposição ao Hg (DE MARCO et al., 2010; FILLION et al., 2006; GUALLAR et al., 2002; MOZAFFARIAN, 2009; RISSANEN et al., 2000; VIRTANEN et al., 2005). O aumento da PCRus, independente da época do ano e principalmente em comunidades com exposição mais pronunciadas ao Hg pode ser um marcador adicional para avaliar o risco da exposição ao metal em populações cronicamente expostas ao Hg.

Além disso, o aumento da PCRus está também relacionado à oxidação de lipídios e proteínas, os quais são importantes na progressão de lesões cardiovasculares (DOHI et al., 2007).

Nossos dados demonstram que o processo inflamatório deflagrado pelo Hg induz também a expressão de interleucinas inflamatória (IL-6) e anti-inflamatória (IL-10), fato evidenciado pelo maior teor de Hg e marcadores do estresse associados a esse metal nos indivíduos que expressaram essas ILs. Esses achados estão de acordo com Nyland et al. (2011), os quais evidenciaram um aumento desses tipos

de mediadores químicos imunológicos na região do Rio Tapajós. Ainda, aqueles autores evidenciaram que um aumento das concentrações dessas ILs estavam associadas com a produção de auto-anticorpos. Porém, na presente investigação essas imunoglobulinas não foram identificadas.

A expressão da IL-10 é vista como um efeito protetor em indivíduos com resposta inflamatória aguda associada à exposição ao Hg (HEESCHEN et al., 2003). Além disso, em outras situações clínicas quando o conteúdo de PCRus não é alterado, a expressão de IL-10 é um prognóstico de síndromes coronarianas agudas (SMITH et al., 2001). No entanto, quando as concentrações de PCRus se elevam, a ação benéfica anti-inflamatória da IL-10 é observada (HEESCHEN et al., 2003), e ações terapêuticas para aumentar a expressão de IL-10 podem ser uma alternativa em situações em que ocorrem uma elevação da PCRus.

Adicionalmente, os teores de cobre foram um preditor negativo do aumento de IL-10 sérica. É conhecido que a elevação na cupremia está associada com a progressão do processo inflamatório (DAVIS; JOHNSON, 2001) e a relação observada aqui pode denotar que a resposta anti-inflamatória ao Hg é diminuída com a elevação do Cu. Assim o biomonitoramento da cupremia em indivíduos expostos ao Hg pode ser de extrema relevância.

A IL-6 estimula a liberação de PCR pelo fígado (LIND, 2003) e uma associação entre ambas é esperada. Além disso, a oxidação de lipídios é uma das decorrências do aumento da proteína em questão, ou seja, uma associação positiva entre IL-6 e MDA é também plausível.

6. CONCLUSÕES

Na região do médio Tapajós, a exposição ao Hg-S é dependente da sazonalidade e da localização comunitária, sendo que a estação cheia e comunidades de beira de rio apresentam maiores teores de Hg sanguíneo. As concentrações sanguíneas dos metais essenciais Cu, Se e Zn, dos carotenóides (β -caroteno e licopeno) e da vitamina E se mostraram dependentes da sazonalidade. Os valores da GSH-Px, do MDA plasmático, a atividade e reativação da ALA-D foram dependentes da sazonalidade e associados positivamente aos teores de Hg-S. Os demais biomarcadores (GSH e as enzimas CAT e SOD) guardaram uma relação sazonal dependente da comunidade, mas que não estiveram associados com o Hg-S. O licopeno foi um importante preditor positivo da GSH. Já, o β -caroteno foi um importante preditor negativo do MDA plasmático. Além disso, o Se foi um importante preditor positivo da atividade da GSH-Px e, o Zn foi um preditor negativo da atividade da ALA-D. Os valores de PCRus sanguínea estiveram associados positivamente ao Hg-S e ao MDA. Também os indivíduos que expressaram as interleucinas (IL-6 e IL-10), apresentaram Hg-S e marcadores do estresse oxidativo mais elevados do que indivíduos que não as expressaram. No entanto, para aqueles indivíduos que expressaram a IL-10, os valores de Cu em sangue foram um preditor negativo dessa interleucina. Já para os que expressaram a IL-6, as concentrações de PCRus e MDA estiveram positivamente associadas com a referente citocina.

Cabe finalmente destacar que os resultados gerados no presente estudo, além de trazer dados inéditos acerca de alguns micronutrientes e sua relação com os marcadores de toxicidade do Hg, forneceram aos comunitários ribeirinhos que participaram do estudo, uma breve avaliação do seu estado nutricional, mostrando como o hábito alimentar em diferentes épocas do ano nesta região pode alterar vários parâmetros relacionados diretamente a saúde humana, bem como na modulação dos efeitos decorrentes da exposição ao mercúrio.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAMID, H. A.; FAHMY, F. C.; SHARAF, I. A. Influence of free radicals on cardiovascular risk due to occupational exposure to mercury. **The Journal of the Egyptian Public Health Association**, Cairo, v. 76, n. 1-2, p. 53-69, 2001.

ABIAKA, C.; AL-TOBI, M.; JOSHI, R. Serum Micronutrient and Micromineral Concentrations and Ratios in Healthy Omani Subjects. **Medical Principles and Practice**, Basel, v. 17, n. 4, p. 334-339, 2008.

ABIAKA, C.; OLUSI, S.; SIMBEYE, A. Serum concentrations of micronutrient antioxidants in an adult Arab population. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 11, n. 1, p. 22-27, 2002.

AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, New York, v. 105, n. 1, p. 121-126, 1984.

AFONSO, C. et al. Total and organic mercury, selenium and α -tocopherol in some deep-water fish species. **Journal Science Food and Agricultural**, v. 88, n. 2, p. 2543–2550, 2008.

AGRAWAL, A. et al. Thimerosal induces TH2 responses via influencing cytokine secretion by human dendritic cells. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 81, n. 2, p. 474-482, 2007.

AGUILÓ, A. et al. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, London, v. 14, n. 6, p. 319-325, 2003.

AKAGI, H. et al. Methylmercury pollution in the Amazon. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 175, n. 2, p. 85–96, 1995.

AKAGI, H. et al. Methylmercury dose estimation from umbilical cord concentrations in patients with Minamata disease. **Environmental Research**, New York, v. 77, n. 2, p. 98–103, 1998.

AL-DELAIFY, W. K. et al. Plasma levels of six carotenoids in nine European countries: report from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). **Public Health Nutrition**, London, v. 6, n. 2, p. 713-722, 2004.

ALBANES, D. et al. Effects of supplemental b-carotene, cigarette smoking, and alcohol consumption on serum carotenoids in the Alpha-tocopherol, Beta-carotene Cancer Prevention Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 66, n. 2, p. 366–372, 1997.

ALENCAR, F. H. et al. Diagnóstico da realidade nutricional no estado do Amazonas, Brasil. I – Hipovitaminose A. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 32, n. 4, p. 613-623, 2002.

ALMEIDA, M. D. et al. Mercury loss from soils following conversion from forest to pasture in Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Environmental Pollution**, England, v. 137, n. 2, p. 179-186, 2005.

ALIMONTI, A. et al. Assessment of reference values for selected elements in a health urban population. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, Roma, v. 41, n. 2, p. 181–187, 2005.

ANDERSEN, H. R.; ANDERSEN, O. Effects of dietary alpha-tocopherol and beta-carotene on lipid peroxidation induced by methyl mercuric chloride in mice. **Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 73, n. 4, p. 192-201, 1993.

ANETOR, J. I. et al. High cadmium/zinc ratio in cigarette smokers: potential implications as a biomarker of risk of prostate cancer. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, Benin City, v. 23, n. 1-2, p. 41–49, 2008.

APOSTOLAKIS, S. et al. IL-1 cytokines in cardiovascular disease: diagnostic, prognostic and therapeutic implications. **Cardiovascular and Hematological. Agents in Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 150–158, 2008.

ARIZA, M. E.; BIJUR, G. N.; WILLIAMS, M. V. Lead and mercury mutagenesis: role of H₂O₂, superoxide dismutase, and xanthine oxidase. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 31, n. 4, p. 352-361, 1998.

ARVANITIDOU, V. et al. Serum copper and zinc concentrations in healthy children aged 3-14 years in Greece. **Biological Trace Element Research**, London, v. 115, n. 1, p. 1-12, 2006.

ASCHERIO, A. et al. Correlations of vitamin A and E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among American men and women. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 122, n. 9, p. 1792–1801, 1992.

ASCHNER, M.; ASCHNER, J. L. Manganese transport across the blood-brain barrier: relationship to iron homeostasis. **Brain Research Bulletin**, New York, v. 24, n. 6, p. 857-860, 1990.

ASCHNER, M.; DORMAN, D. C. Manganese: pharmacokinetics and molecular mechanisms of brain uptake, **Toxicological Reviews**, Auckland, v. 25, n. 3, p. 147-154, 2006.

ATESSAHIN, A. et al. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. **Toxicology**, Amsterdam, v. 212, n. 2-3, p. 116-123, 2005.

ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological profile for mercury**. Center for Disease Control, Atlanta, 1999. 676 p.

AUGUSTI, P. R. et al. Effect of lycopene on nephrotoxicity induced by mercuric chloride in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 100, n. 6, p. 398-402, 2007.

AUGUSTI, P. R. et al. Effect of astaxanthin on kidney function impairment and oxidative stress induced by mercury chloride in rats. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 212-219, 2008.

BAHIA, M. O. et al. Environmental biomonitoring using cytogenetic endpoints in a population exposed to mercury in the Brazilian Amazon. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v. 44, n. 4, p. 346-349, 2004.

BAIERLE, M. et al. Possíveis efeitos do cobre sanguíneo sobre parâmetros hematológicos em idosos, **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 6, p. 463-470, 2010.

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

BÁRÁNY, E. et al. Relationships between trace element concentrations in human blood and serum. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 134, n. 1-3, p. 177-184, 2002.

BARBOSA, A. C.; GARCIA, A. M.; SOUZA, J. R. Mercury contamination in hair of riverine populations of Apicás reserve in the Brazilian Amazon. **Water Air Soil Pollut**, v. 97, p. 1-8, 1997. Número especial.

BARCELOUX, D. G. Copper. **Journal of Toxicology. Clinical Toxicology**, New York, v. 37, n. 2, p. 217–230, 1999.

BARIETY, J. et al. Glomerulonephritis with g and b1 C-globulin deposits induced in rats by mercuric chloride. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 65, n. 2, p. 293–302, 1971.

BASTOS, W. R. et al. Mercury in the environment and riverside population in the Madeira River Basin, Amazon, Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 1, p. 344–351, 2006.

BERÇOT, M. A. **Uma questão de perspectiva: os enfoques especialista e local sobre o contexto de saúde e ambiente na região do médio Tapajós, Amazônia Brasileira**. 2009. 139 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável) – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

BERR, C. et al. Systemic oxidative stress and cognitive performance in the population-based EVA study. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 24, n. 7–8, p. 1202–1208, 1998.

BÉLANGER, M. C. et al. Seasonal exposure and oxidant-antioxidant status of James Bay sport fishermen. **Metabolism: Clinical and Experimental**, New York, v. 57, n. 5, p. 630–636, 2008a.

BÉLANGER, M. C. et al. Environmental contaminants and redox status of coenzyme Q10 and vitamin E in Inuit from Nuvanik. **Metabolism: Clinical and Experimental**, New York, v. 57, n. 7, p. 927–933, 2008b.

BEMIS, J. C.; SEEGAL, R. F. Polychlorinated biphenyls and methylmercury alter intracellular calcium concentrations in rat cerebellar granule cells. **Neurotoxicology**, Amsterdam, v. 21, n. 6, p. 1123–1134, 2000.

BENDICH, A. Carotenoids and the immune response. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 119, n. 1, p. 112–115, 1989.

BERGHEIM, I. et al. Nutritional deficiencies in German middle-class male alcohol consumers: relation to dietary intake and severity of liver disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 57, n. 3, p. 431–438, 2003.

BOCCA, B. et al. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 25, n. 1, p. 19–26, 2011.

BOLTON-SMITH, C. et al. Antioxidant vitamin intakes assessed using a food-frequency questionnaire: correlation with biochemical status in smokers and non-smokers. **The British Journal of Nutrition**, London, v. 65, n. 3, p. 337–346, 1991.

BORAWSKA, M. H. et al. Influence of dietary habits on serum selenium concentration. **Annals of Nutrition & Metabolism**, Basel, v. 48, n. 3, p. 134–140, 2004.

BOWLER, R. M. et al. Dose-effect relations between manganese exposure and neurological, neuropsychological and pulmonary function in confined space bridge welders. **Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 64, n. 3, p. 167–177, 2007.

BRANCHES, F. et al. The price of gold: mercury exposure in the Amazonian rain forest. **Journal of Toxicology**, New York, v. 31, n. 2, p. 295–306, 1993.

BRASIL, M. C.; SANTOS, C. A.; TEIXEIRA, P. A população da Amazônia (1940 a 2000). Em: MENDES, A. D. **Amazônia, terra e civilização**: uma trajetória de 60 anos. 2º ed. Belém: Banco da Amazônia, 2004. p. 79–114.

BRIDGES, C. C.; ZALUPS, R. K. Cystine and glutamate transport in renal epithelial cells transfected with human system x(-) (c). **Kidney International**, New York, v. 68, n. 2, p. 653–664, 2005.

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

BURRI, J.; HALDIMANN, E.; DUDLER, V. Selenium status of the Swiss population: assessment and change over a decade. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 22, n. 2, p. 112–119, 2008.

CARROL, D. N.; ROTH, M. T. An evidence for the cardioprotective effects of omega-3 fatty acids. **The Annals of Pharmacotherapy**, Cincinnati, v. 36, n. 12, p. 1950–1956, 2002.

CASHMAN, K. D. et al. No effect of copper supplementation on biochemical markers of bone metabolism in healthy young adult females despite apparently improved copper status. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 55, n. 7, p. 525–531, 2001.

CASTENMILLER, J. J. M.; WEST, C. Bioavailability and bioconversion of carotenoids. **Annual Review of Nutrition**, New York, v. 18, p. 19-39, 1998. Número especial.

CASTOLDI, A. F. et al. Human developmental neurotoxicity of methylmercury: impact of variables and risk modifiers. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 51, n. 2, p. 201-214, 2008.

CHALMERS, P. Smoking and oxidative stress. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 69, n. 3, p. 572–575, 1999.

CHAPMAN, L.; CHAN, H. M. The influence of Nutrition on Methyl Mercury Intoxication. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 108, n. 1, p. 29-56, 2000.

CHEN, C. et al. Increased oxidative DNA damage, as assessed by urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine concentrations and serum redox status in persons exposed to mercury. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 51, n. 4, p. 759-767, 2005.

CHEUNG, M. K.; VERITY, M. A. Experimental methylmercury neurotoxicity: similar “in vivo” and “in vitro” perturbation of brain cell – free protein synthesis. **Experimental and Molecular Pathology**, New York, v. 38, n. 2, p. 230-242, 1983.

CLARKSON, T. W. The toxicology of mercury. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Science**, Cleveland, v. 34, n. 4, p. 369-403, 1997.

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

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. **Critical Reviews in Toxicology**, London, v. 36, n. 8, p. 609-662, 2006.

COCCINI, T. et al. Effects of developmental co-exposure to methylmercury and 2, 20, 4, 40, 5, 50-hexachlorobiphenyl (PCB153) on cholinergic muscarinic receptors in rat brain. **Neurotoxicology**, Amsterdam, v. 27, n. 4, p. 468-477, 2006.

COCCINI, T. et al. Perinatal co-exposure to methylmercury and PCB153 or PCB126 in rats alters the cerebral cholinergic muscarinic receptors at weaning and puberty. **Toxicology**, Amsterdam, v. 238, n. 1, p. 34–48, 2007.

COELHO-SOUZA, S. A.; MIRANDA, M. R.; GUIMARÃES, J. R. D. A importância das macrófitas aquáticas no ciclo do mercúrio na bacia do rio Tapajós (PA). **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 252-263, 2007.

COMBS, G. F.; GRAY, W. P. Chemoprotective agents: selenium. **Pharmacology & Therapeutics**, England, v. 79, n. 3, p. 179–192, 1998.

CRUMP, K. S. Manganese exposures in Toronto during use of the gasoline additive, methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**, Princeton, v. 10, n. 3, p. 227-239, 2000.

DAVIS, C. D.; JOHNSON, W. T. Dietary copper and dimethylhydrazine affect protein kinase C isozyme protein and mRNA expression and the formation of aberrant crypts in colon of rats. **Biofactors**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 11–26, 2001.

DA SILVA, A. C. et al. Oxidative stress and d-ALA-D activity in chronic renal failure patients. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, New York, v. 61, n. 2-3, p. 180–185, 2007.

DE MARCO, K. C. et al. Environmental exposure to methylmercury is associated with a decrease in nitric oxide production. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 106, n. 5, p. 411-415, 2010.

DE OLIVEIRA SANTOS, E. C. et al. Exposure to mercury in the urban population of Rio Branco City, State of Acre, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 69, n. 3, p. 314-319, 2002.

DE OLIVEIRA, M. R. et al. Evaluation of the effects of vitamin A supplementation on adult rat substantia nigra and striatum redox and bioenergetic states. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, London, v. 33, n. 2, p. 353-362, 2009.

DIETRICH, M. et al. Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase gamma-tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intakes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 77, n. 1, p. 160–166, 2003.

DÍEZ, S. Human health effects of methylmercury exposure. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 198, p. 111-132, 2009. Número especial.

DOHI, Y. et al. Association among C-reactive protein, oxidative stress, and traditional risk factors in healthy Japanese subjects. **International Journal of Cardiology**, Amsterdam, v. 115, n. 1, p. 63–66, 2007.

DOLBEC, J. et al. Methyl mercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajós River, Brazilian Amazon. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, Berlin, v. 73, n. 3, p. 195-203, 2000.

DOLBEC, J. et al. Sequential analysis of hair mercury levels in relation to fish diet of an Amazonian population, Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 271, n. 1-3, p. 87–97, 2001.

DÓREA, J. G. et al. Selenium and mercury: concentrations in some fish species of the Madeira River, Amazon Basin, Brazil. **Biological Trace Element Research**, London, v. 65, n. 3, p. 1–10, 1998.

DÓREA, J. G. et al. Mercury in hair and in fish consumed by Riparian women of the Rio Negro, Amazon, Brazil. **International Journal of Environmental Health Research**, London, v. 13, n. 3, p. 239-248, 2003.

DÓREA, J. G. et al. Hair mercury (signature of fish consumption) and cardiovascular risk in Mundurucu and Kayabi Indians of Amazonia. **Environmental Research**, New York, v. 97, n. 2, p. 209-219, 2005a.

DÓREA, J. G. et al. Fish consumption (hair mercury) and nutritional status of Amazonian Amerindian children. **American Journal of Human Biology**, New York, v. 17, n. 4, p. 507-514, 2005b.

DÓREA, J. G.; BARBOSA, A. C.; SILVA, G. S. Fish mercury bioaccumulation as a function of feeding behavior and hydrological cycles of the Rio Negro, Amazon. **Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology**, New York, v. 142, n. 3-4, p. 275-283, 2006.

DRINGEN, R. Metabolism and functions of glutathione in brain. **Progress in Neurobiology**, Oxford, v. 62, n. 6, p. 649-671, 2000.

DRINGEN, R.; HIRRLINGER, J. Glutathione pathways in the brain. **Biological Chemistry**, Berlin, v. 384, n. 4, p. 505-516, 2003.

DRUET, P. et al. Immune type glomerulonephritis induced by HgCl₂ in the BrownNorway rat. **Annales d'immunologie**, Paris, v. 129, n. 6, p. 777-792, 1978

DRUET, P. et al. Mercury-induced autoimmune glomerulonephritis in animals. **Contributions to Nephrology**, Switzerland., v. 61, n. 1, p. 120–130, 1988.

DRUET, P.; PELLETIER, L. Th2 and Th1 autoreactive anti-class II cell lines in the rat suppress or induce autoimmunity. **Journal of Autoimmunity**, London, v. 9, n. 2, p. 221–226, 1996.

DUMONT, E.; VANHAECKE, F.; CORNELIS, R. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 385, n. 7, p. 1304–1323, 2006.

ECKHARDT, W.; BELLMANN, K.; KOLB, H. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression in beta cells by environmental factors: heavy metals. **The Biochemical Journal**, London, v. 338, n. 3, p. 695–700, 1999.

EKLUND, K. K. et al. Serum IL-1 beta levels are associated with the presence of erosions in recent onset rheumatoid arthritis. **Clinical and Experimental Rheumatology**, Pisa, v. 25, n. 5, p. 684–689, 2007.

ELLMAN, G. L. Tissue sulphydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 82, n. 1, p. 70–77, 1959.

ENDO, T.; SAKATA, M. Effects of sulfhydryl compounds on the accumulation, removal and cytotoxicity of inorganic mercury by primary cultures of rat renal cortical epithelial cells. **Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 76, n. 3, p. 190–195, 1995.

EPLER, K.; ZIEGLER, R.; CRAFT, N. Liquid chromatographic method for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in food. **Journal of Chromatography**, v. 619, n. 1, p. 37–48, 1993.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 11, n. 1, p. 81–128, 1991.

FARELLA, N. et al. Deforestation modifying terrestrial organic transport in the Rio Tapajós, Brazilian Amazon. **Organic Geochemic**, London, v. 32, n. 3, p. 1443–1458, 2001.

FARELLA, N. **Les fermes familiales de la région frontière du Tapajós em Amazonie brésilienne**: relations entre les origines, les pratiques agricoles, les impacts sur les sols et le déboisement. 2005. 209 p. Tese de Doutorado. Université du Québec à Montréal, Montreal, Canadá, 2005.

FARELLA, N. et al. Mercury release from deforested soils triggered by base cation enrichment. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 1, p. 19-29, 2006.

FARIA, M, A. Mercuralismo metálico crônico ocupacional. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 116-127, 2003.

FARINA, M. et al. Additive pro-oxidative effects of methylmercury and ebselen in liver from suckling rat pups. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 146, n. 3, p. 227-235, 2004.

FIELDS, M.; LEWIS, C. G. Alcohol consumption aggravates copper deficiency. **Metabolism**, New York, v. 39, n. 6, p. 610-613, 1990.

FILLION, M. et al. A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon. **Environmental Health**, London, v. 5, n. 29, p. 1-9, 2006.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, London, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000.

FONTANA, J. D. et al. Carotenóides, cores atraentes e ação biológica. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 13, p. 40-45, 2001. Número especial

FRIDOVICH, I. The trail to superoxide dismutase. **Protein Science**, New York, v. 2, n. 7, p. 2688-2690, 1998.

GALAN, P. et al. Serum concentrations of beta-carotene, vitamins C and E, zinc and selenium are influenced by sex, age, diet, smoking status, alcohol consumption and corpulence in a general French adult population. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 59, n. 10, p. 1181-1190, 2005.

GALVE-DE-ROCHEMONTEIX, B. et al. C-reactive protein increases production of IL-1 alpha, IL-1 beta, and TNF-alpha, and expression of mRNA by human alveolar macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, New York, v. 53, n. 4, p. 439-445, 1993.

GARDNER, R. M. et al. Mercury induces an unopposed inflammatory response in human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 117, n. 12, p. 1932-1938, 2009.

GARDNER, R. M. et al. Mercury exposure, serum antinuclear/antinucleolar antibodies, and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil: a cross-sectional study. **Environmental Research**, New York, v. 110, n. 4, p. 345-354, 2010.

GASSÓ, S. et al. Antioxidant compounds and Ca^{2+} pathway blockers differentially protect against methylmercury and mercuric chloride neurotoxicity. **Journal of Neuroscience Research**, New York, v. 66, n. 1, p. 135-145, 2001.

GERALDO, R. R. C. et al. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 443-460, 2003.

GIL, F. et al. Heavy metal concentrations in the general population of Andalusia, South of Spain. A comparison with the population within the area of influence of Aznalcollar mine spill (SW Spain). **The Science of Total Environment**, Amsterdam, v. 372, n. 1, p. 49-57, 2006.

GIRARDI, G.; ELIAS, M. M. Effect of different renal glutathione levels on renal mercury disposition and excretion in the rat. **Toxicology**, Amsterdam, v. 81, n. 1, p. 57-67, 1993.

GLEESON, M.; ROBERTSON, J. D.; MAUGHAN, R. J. Influence of exercise on ascorbic acid status in man. **Clinical Science**, London, v. 73, n. 5, p. 501-505, 1987.

GOMES, P. C. R. **Amazônia dos Rios: modelagem participativa da gestão do uso do solo para o empoderamento local**. 2008. 282 p. Tese de Doutorado – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

GONÇALVES, T. L. et al. Involvement of oxidative stress in the pre-malignant and malignant states of cervical cancer in women. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v. 38, n. 12, p. 1071-1075, 2005.

GOODMAN, G. E.; METCH, B. J.; OMENN, G. S. The effect of long b-carotene and vitamin A administration on serum concentrations of a-tocopherol. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 3, p. 429-432, 1994. Disponível em: <<http://cebp.aacrjournals.org/content/3/5/429>>. Acesso em 26 março de 2012.

GOODMAN, G. E. et al. The association between participant characteristics and serum concentrations of beta-carotene, retinol, retinyl palmitate, and alpha-tocopherol among participants in the Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET) for prevention of lung cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 5, n. 10, p. 815-821, 1996.

GOULLÉ, J. P. M. et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 153, n. 1, p. 39-44, 2005.

GRANDJEAN, P. et al. Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. **Archives of Environmental Health**, Chicago, v. 47, n. 3, p. 185-195, 1992.

GRANDJEAN, P.; WEIHE, P.; WHITE, R. F. Milestone development in infants exposed to methylmercury from human milk. **Neurotoxicology**, Amsterdam, v. 16, n. 1, p. 27-33, 1995.

GRANDJEAN, P. et al. Cognitive performance of children prenatally exposed to "safe" levels of methylmercury. **Environmental Research**, New York, v. 77, n. 2, p. 165-172, 1998.

GRANDJEAN, P. et al. Methyl mercury neurotoxicity in Amazonian children downstream from gold mining. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 107, n. 7, p. 587-591, 1999.

GREGUS, Z.; VARGA, F. Role of glutathione and hepatic glutathione S-transferase in the biliary excretion of methyl mercury, cadmium and zinc: a study with enzyme inducers and glutathione depletors. **Acta Pharmacologica et Toxicológica**, København, v. 56, n. 5, p. 398-403, 1985.

GROTTO, D. et al. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 619-624, 2007.

GROTTO, D. et al. Low levels of methylmercury induce DNA damage in rats: protective effects of selenium. **Archives of Toxicology**, Berlin, v. 83, n. 3, p. 249-254, 2009a.

GROTTO, D. et al. Low level and sub-chronic exposure to methylmercury induces hypertension in rats: nitric oxide depletion and oxidative damage as possible mechanisms. **Archives of Toxicology**, Berlin, v. 83, n. 7, p. 653-662, 2009b.

GROTTO, D. et al. Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, n. 4, p. 806-811, 2010.

GROTTO, D. et al. Evaluation of protective effects of fish oil against oxidative damage in rats exposed to methylmercury. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 74, n. 3, p. 487-493, 2011a.

GROTTO, D. et al. Evaluation of toxic effects of a diet containing fish contaminated with methylmercury in rats mimicking the exposure in the Amazon riverside population. **Environmental Research**, New York, v. 111, n. 8, p. 1074-1082, 2011b.

GUALLAR, E. et al. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 347, n. 22, p. 1747-1754, 2002.

GUIMARÃES, J. R. D. et al. Hg methylation in sediments and floating meadows of a tropical lake in Pantanal floodplain, Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 213, n. 2, p. 165-175, 1998.

GUIMARÃES, J. R. D. et al. Mercury methylation along a lake-forest transect in the Tapajós river floodplain, Brazilian Amazon: seasonal and vertical variations. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 261, n. 1-3, p. 91-98, 2000.

HAASE, H.; RINK, L. The immune system and the impact of zinc during aging. **Immunity & Ageing**, London, v. 6, n. 2, p. 9-25, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3^o ed. Oxford: Elsevier, 1999. p. 134.

HAMBIDGE, M. Human zinc deficiency. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. 1344S–1349S, 2000. Suplemento.

HAMBIDGE, M. Biomarkers of trace mineral intake and status. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, p. 948S–955S, 2003. Suplemento.

HAMILTON, S. J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 326, n. 1-3, p. 1–31, 2004.

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

HEESCHEN, C. et al. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. **Circulation**, Dallas, v. 107, n. 16, p. 2109-2114, 2003.

HEINEMANN, G.; SCHIEVELBEIN, H.; EBER, S. Effect of cigarette smoking on white blood cells and erythrocyte enzymes. **Archives of Environmental Health**, Chicago, v. 37, n. 5, p. 261-265, 1982.

HIGHTOWER, J. M.; MOORE, D. Mercury levels in high-end consumers of fish. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 111, n. 4, p. 604-608, 2003.

HOUGHTON, R. A. et al. Annual fluxes of carbon from deforestation and regrowth in the Brazilian Amazon. **Nature**, London, v. 403, n. 6767, p. 301-304, 2000.

HU, H.; ABEDI-VALUGERDI, M.; MÖLLER, G. Pretreatment of lymphocytes with mercury in vitro induces a response in T cells from genetically determined low-responders and a shift of the interleukin profile. **Immunology**, Oxford, v. 90, n. 2, p. 198-204, 1997.

HULTBERG, B.; ANDERSSON, A.; ISAKSSON, A. Alterations of thiol metabolism in human cell lines induced by low amounts of copper, mercury or cadmium ions. **Toxicology**, Amsterdam, v. 126, n. 3, p. 203-212, 1998.

HUSSAIN, S. et al. Accumulation of mercury and its effect on antioxidant enzymes in brain, liver, and kidneys of mice. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, London, v. 34, n. 4, p. 645-660, 1999.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Contagem da População. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/contagem_final/tabela1_1_5.pdf>. Acesso em: 03 de março de 2012.

IBS, K. H.; RINK, L. Zinc-altered immune function. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, n. 5, p. 1452S-1456S, 2003. Suplemento.

Institute of Medicine. National Academy of Science, Food and Nutrition Board, Panel on Dietary Antioxidants and related compounds. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press eds, 2000.

ITO, Y. et al. Serum concentration of carotenoids, retinol, and alpha-tocopherol in healthy persons determined by high performance liquid chromatography. **Clinical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 194, n. 2-3, p. 131-144, 1990.

KAFAL, M. R.; GANJI, V. Sex, age, geographical location, smoking, and alcohol consumption influence serum selenium concentrations in the USA: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 17, n. 1, p. 3-18, 2003.

KANAMUKALA, S.; BONEH, A.; ZACHARIN, M. Pamidronate treatment improves bone mineral density in children with Menkes disease. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, Netherlands, v. 25, n. 5, p. 391-398, 2002.

KAUR, K. et al. Biology of TNFalpha and IL-10, and their imbalance in heart failure. **Heart Failure Reviews**, Norwell, v. 14, n. 2, p. 113-123, 2009.

KAYSEN, G. A.; EISERICH, J. P. The role of oxidative stress-altered lipoprotein structure and function and microinflammation on cardiovascular risk in patients with minor renal dysfunction. **Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, v. 15, n. 3, p. 538-548, 2004.

KEDZIERSKA, K. et al. Trace elements modify the activity of sodium transporting systems in erythrocyte membrane in patients with essential hypertension-preliminary study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Berlin, v. 20, n. 2, p. 469-471, 2005.

KESSE, E, et al. Do eating habits differ according to alcohol consumption? Results of a study of the French cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (E3N-EPIC). **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 74, n. 3, p. 279-280, 2001.

KIM, S.H.; JOHNSON, V. J.; SHARMA, R. P. Mercury inhibits nitric oxide production but activates proinflammatory cytokine expression in murine macrophage: differential modulation of NF- [kappa]B and p38 MAPK signaling pathways. **Nitric Oxide: Biology and Chemistry**, Orlando, v. 7, n. 1, p. 67-74, 2002.

KING, J. C. Determinants of maternal zinc status during pregnancy. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 71, p. 1334S-1343S, 2000.Suplemento.

KOCYIGIT, A.; EREL, O.; GUR, S. Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme activities. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v. 34, n. 8, p. 629-633, 2001.

KOZMA, L. et al. Induction of renin release from isolated glomeruli by inorganic mercury(II). **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 85, n. 1, p. 49-54, 1996.

KOJIMA, S.; SHIMADA, H.; KIYOZUMI, M. Comparative effects of chelating agents on distribution, excretion, and renal toxicity of inorganic mercury in rats. **Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology**, New York, v. 64, n. 3, p. 471-484, 1989.

KOUREMENOU-DONA, E. et al. Copper and zinc concentrations of healthy Greek adults. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 359, n. 1-3, p. 76–81, 2006.

KRIEGER, D. et al. Manganese and chronic hepatic encephalopathy. **Lancet**, London, v. 346, n. 8970, p. 270-274, 1995.

KRINSKY, N. I.; JOHNSON, E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, London, v. 26, n. 6, p.459-516, 2005.

KRISTIANSEN, J. et al. Toxic trace element reference levels in blood and urine: influence of gender and lifestyle factors. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 204, n. 2, p. 147–160, 1997.

KUCERA, J. et al. Review of trace elements in blood, serum and urine for the Czech and Slovak populations and critical evaluation of their possible use as reference values. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 166, n. 3, p. 211–234, 1995.

LACERDA, L. D.; SOUZA, M.; RIBEIRO, M. G. The effects of land use change on mercury distributions in soils of Alta Floresta, Southern Amazon. **Environmental Pollution**, London, v. 129, n. 2, p. 247-255, 2004.

LASH, L. H.; PUTT, D. A.; ZALUPS, R. K. Influence of exogenous thiols on inorganic mercury-induced injury in renal proximal and distal tubular cells from normal and uninephrectomized rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, New York, v. 291, n. 2, p. 492–502, 1999.

LEBEL, J. et al. Evidence of early nervous system dysfunctions in Amazonian populations exposed to low-level methyl mercury. **Neurotoxicology**, Park Forest South, v. 17, n. 1, p. 157-168, 1996.

LEBEL, J. et al. Fish diet and mercury exposure in a riparian Amazonian Population. **Water Air Soil Pollut**, Toronto, v. 97, n. 5, p. 31-44, 1997.

LEBEL, J. et al. Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. **Environmental Research**, New York, v. 79, n. 1, p. 20–32, 1998.

LECOMTE, E. et al. Effect alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 60, n. 2, p. 255–261, 1994.

LEMIRE, M. et al. Elevated blood selenium levels in the Brazilian Amazon. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 366, n. 1, p. 101-111, 2006.

LEMIRE, M. et al. Biomarkers of selenium status in the Amazonian context: blood, urine and sequential hair segments. **Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, New York, v. 19, n. 2, p. 213-222, 2009.

LEMIRE, M. et al. Elevated of selenium in the typical diet of Amazonian riverside populations. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, n. 19, p. 4076-4084, 2010a.

LEMIRE, M. et al. Selenium and mercury in the Brazilian Amazon: Opposing influences on age-related cataracts. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 118, n. 11, p. 1584-1589, 2010b.

LEWIS, G. Cigarette smoking and cadmium accumulation in man. **Lancet**, London, v. 1, n. 7752, p. 682-683, 1972.

LIND, L. Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 169, n. 2, p. 203-214, 2003.

LIUZZO, G. et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 331, n. 7, p. 417-424, 1994.

LÓPEZ-ARTÍGUEZ, M. et al. Levels of zinc, copper and lead in wines from the area south of Seville. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 45, n. 5, p. 711-717, 1990.

MAINVILLE, N. et al. Decrease of soil fertility and release of mercury following deforestation in the Andean Amazon, Napo River Valley, Ecuador. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 368, n. 1, p. 88-98, 2006.

MALM, O. et al. Mercury pollution due to gold mining in the Madeira river basin, Brazil. **Ambio: A Journal of the Human Environment**, Oslo, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1990.

MALM, O. et al. Mercury and methyl mercury in fish and human hair from the Tapajós river basin, Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 175, n. 2, p. 141-150, 1995.

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

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MANARI, A. P.; PREEDY, V. R.; PETERS, T. J. Nutritional intake of hazardous drinkers and dependent alcoholics in the UK. **Addiction Biology**, Abingdon, v. 8, n. 2, p. 201-210, 2003.

MARANGON, K. et al. Diet, antioxidant status, and smoking habits in French men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 67, n. 2, p. 231-239, 1998.

MARINHO, H. A. et al. Níveis séricos de Vitamina A em operários de Manaus-AM. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 11, n. 2, p. 347- 353, 1981.

MASSADEH, A. et al. Simultaneous determination of Cd, Pb, Cu, Zn, and Se in human blood of jordanian smokers by ICP-OES. **Biological Trace Element Research**, London, v. 133, n. 1, p. 1-11, 2010.

MAURICE-BOURGOIN, L. et al. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira Rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 260, n. 1, p. 73-86, 2000.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 244, p. 6049-6055, 1969. Número especial.

MCGRATH, L. T. et al. Oxidative stress in erythrocyte membrane fluidity in patients undergoing regular dialysis. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 235, n. 2, p. 179-188, 1995.

MCKEOWN-EYSSSEN, G. E.; RUEDY, J.; NEIMS, A. Methyl mercury exposure in northern Quebec: II. Neurologic findings in children. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 118, n. 4, p. 470-479, 1983.

MELO, A. M. et al. Serum vitamin A levels in patients with ocular lesions attributable to non-complicated malaria in the Brazilian Amazon region. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 98, n. 8, p. 485-488, 2004.

MEZZETTI, A. et al. Vitamins E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v. 112, n. 1, p. 91–99, 1995.

MILNE, D. B.; NIELSEN, F. H. Effects of a diet low in copper on copper-status indicators in postmenopausal women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 63, n. 3, p. 358-364, 1996.

MINOIA, C. et al. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 95, n. 3, p.89-105, 1990.

MIRAZI, N. et al. Effect of subchronic zinc toxicity on rat salivary glands and serum composition. **Toxicology and Industrial Health**, London, 2012. Disponível em: <<http://tih.sagepub.com/content/early/2012/01/10/0748233711427052.long>>. Acesso em: 26 março de. 2012.

MOLD, C.; GRESHAM, H. D.; DU CLOS, T. W. Serum amyloid P component and C-reactive protein mediate phagocytosis through murine Fc gamma_{Rs}. **Journal of Immunology**, New York, v. 166, n. 2, p. 1200–1205, 2001.

MONDAL, T. K. et al. Mercury impairment of mouse thymocyte survival in vitro: involvement of cellular thiols. **Journal of Toxicology and Environmental Health: Part A**, Washington, v. 68, n. 7, p. 535–556, 2005.

MORENO, M. A. et al. Trace elements in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 229, n. 3, p. 209–215, 1999.

MORENA, M. et al. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis and Transplantation**, Berlin, v. 17, n. 3, p. 422-427, 2002.

MOZAFFARIAN, D. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Switzerland, v. 6, n. 6, p. 1894-1916, 2009.

MURRIETA, R. S. O dilemma do papa-chibé: consumo alimentar, nutrição e práticas de intervenção na Ilha do Itaquí, Baixo Amazonas, Pará. **Revista de Antropologia**, Belém, v. 41, n. 1, p. 1-20, 1998.

NAGANO. et al. Clinical features of hematological disorders caused by copper deficiency during long term enteral nutrition. **Internal Medicine**, Tokyo, v. 44, n. 6, p. 554-559, 2005.

NAPOLI, J. L. Biochemical pathways of retinoid transport, metabolism and signal transduction. **Clinical Immunology and Immunopathology**, New York, v. 80, p. S52-S62, 1996. Suplemento.

NARDI, E. P. et al. The composition of essential elements in the typical diet of the Amazonian riparian population. **Food Chemical**, London, v. 112, n. 2, p. 727-732, 2009.

NASOLODIN, W.; GLADKIKH, I. P. Manganese provision in trained and untrained schoolchildren and students in different seasons. **Gigiena i sanitariia**, Moskva, v. 1, p. 59-61, 2007. Número especial.

NEWLAND, M. C. et al. The clearance of manganese chloride in the primates. **Fundamental and Applied Toxicology**, New York, v. 9, n. 2, p. 314-328, 1987.

NHANES. National Health and Nutrition Examination Survey National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population 1999-2002, **Center for Disease Control**, Atlanta, 2001-2002. 59 p.

NOGUEIRA, C. W. et al. 2, 3-Dimercaptopropane -1-sulfonic acid and meso -2, 3-dimercaptosuccinic acid increase mercury- and cadmium induced inhibition of delta-aminolevulinate dehydratase. **Toxicology**, Amsterdam, v. 184, n. 2-3, p. 85-95, 2003.

NRC, National Research Council. **Toxicological effects of methylmercury.**, National Academy Press, Washington, DC, 2000, 300p.

NRIAGU, J. O. et al. Mercury pollution in Brazil. **Nature**, London, 2 Ap. 1992. Disponível em: <http://link.periodicos.capes.gov.br.ez67.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3?url_ver=Z39.882004&url_ctx_fmt=infofi/fmt:kev:mtx:ctx&ctx_enc=info:ofi/enc:UTF8&ctx_ver=Z39.882004&rft_id=info:sid/sfxit.com:azlist&sfx.ignore_date_threshold=1&rft.object_id=954_254272381992>. Acesso em 26 março de 2012.

NORTHROP-CLEWES, C. A.; THURNHAM, D. I. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. **Clinical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 377, n. 1-2, p. 14-38, 2007.

NUNES, J. A. et al. A simple method based on ICP-MS for estimation of background levels of arsenic, cadmium, copper, manganese, nickel, lead and selenium in blood of the brazilian population. **Journal of Toxicology and Environmental Health: Part A**, London, v. 73, n. 13-14, p. 878-887, 2010.

NYLAND, J. F. et al. Biomarkers of methylmercury exposure immunotoxicity among fish consumers in Amazonian Brazil. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 119, n. 12, p. 1733-1738, 2011.

OLMEDILLA, B. et al. Seasonal and sex-related variations in six serum carotenoids, retinol and α -tocopherol. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 60, n. 1, p. 106-110, 1994.

OLMEDILLA, B. et al. Reference values for retinol, tocopherol, and main carotenoids in serum of control and insulin-dependent diabetic Spanish subjects. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v. 43, n. 6, p. 1066-1071, 1997.

OLMEDILLA, B. et al. Serum concentrations of carotenoids and vitamins A, E, and C in control subjects from five European countries. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 85, n. 2, p. 227-238, 2001.

OLSON, J. A. Vitamin A function of carotenoids: the conversion of β -carotene to vitamin A. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 119, n. 1, p. 105-108, 1989.

OLSON, J. A. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. **Pure and Applied Chemistry**, London, v. 66, p. 1011-1016, 1994.

OU, Y. C. et al. The role of intracellular glutathione in methylmercury-induced toxicity in embryonic neuronal cells. **Neurotoxicology**, Amsterdam, v. 20, n. 5, p. 793-804, 1999.

PAGLIA, D. E.; VALENTINE, W. N. Study on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxide. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St. Louis, v. 70, p. 158-169, 1967. Número especial.

PALMER, C. D. et al. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessing environmental and occupational exposures: a comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, London, v. 61, n. 8, p. 980-990, 2006.

PALHETA, D.; TAYLOR, A. Mercury in environmental and biological samples from a gold mining area in the Amazon region of Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 168, n. 1, p. 63-69, 1995.

PARKER, R. S. Carotenoids in human blood and tissues. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 119, n. 1, p. 101-104, 1989.

PARTHASARATHY, S. et al. Potential role of oxidized lipids and lipoproteins in antioxidant defense. **Free Radical Research**, London, v. 33, n. 3, p. 197–215, 2000.

PAS, Plano Amazônia Sustentável. **Diretrizes para o Desenvolvimento Sustentável da Amazônia Brasileira do Ministério do Meio Ambiente**, Brasília, 2008, 112 p.

PASSOS, C. J. S. et al. Caracterização do consumo alimentar de uma população ribeirinha na Amazônia Brasileira. **Revista Saúde e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, p. 72-84, 2001.

PASSOS, C. J. S. et al. Eating tropical fruit reduces mercury exposure from fish consumption in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, New York, v. 93, n. 2, p. 123–130, 2003.

PASSOS, C. J. S. et al. Fish consumption and bioindicators of inorganic mercury exposure. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 373, n. 1, p. 68-76, 2007a.

PASSOS, C. J. S. et al. Epidemiological confirmation that fruit consumption influences mercury exposure in riparian communities in the Brazilian Amazon. **Environmental Research**, New York, v. 105, n. 2, p. 183-193, 2007b.

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

PEARSON, T. A. et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation**, Dallas, v. 107, n. 3, p. 499-511, 2003.

PERAZA, M. A. et al. Effects of micronutrients in metal toxicity. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 106, n. S1, p. S203–S216, 1998. Suplemento.

PEROTTONI, J. et al. Effects of mercury and selenite on delta-aminolevulinate dehydratase activity and on selected oxidative stress parameters in rats. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v. 95, n. 2, p. 166-173, 2004.

PESTKA, S. et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 22, p. 929-979, 2004. Número especial.

PINCEMAIL, J. et al. Tocopherol mobilization during intensive exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v. 57, n. 2, p. 189-191, 1988.

PINHEIRO, M. C. N. et al. Avaliação da contaminação mercurial mediante análise do teor de Hg total em amostras de cabelo em comunidades ribeirinhas do Tapajós, Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 181-184, 2000.

PINHEIRO, M. C. N. et al. Comparative study of human exposure to mercury in riverside communities in the Amazon region. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 411-414, 2006.

PINHEIRO, M. C. N. et al. Mercury exposure and antioxidant defenses in women: A comparative study in the Amazon. **Environmental Research**, New York, v. 107, n. 1, p. 53-59, 2008.

PINHEIRO, M. M. et al. Antioxidant intake among Brazilian adults -The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS): a cross-sectional study. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 10, p. 39, 2011. Disponível em: <<http://www.nutritionj.com/content/10/1/39>>. Acesso em 22 de março de 2012.

QIAN, Y. et al. Induction of 78 kD glucose-regulated protein (GRP78) expression and redox-regulated transcription factor activity by lead and mercury in C6 rat glioma cells. **Neurotoxicity Research**, Amsterdam, v. 3, n. 6, p. 581-589, 2001.

RAGIN, C. et al. Pooled analysis of studies on DNA adducts and dietary vitamins. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 705, n. 2, p. 77-82, 2010.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, A. G. **Química dos Alimentos**. 1º ed. São Paulo (Instituto Mauá de Tecnologia): Editora Edgard Blucher, 2004, p. 155-157.

RIDKER, P. M. et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **The New England Journal of Medicine**, London, v. 342, n. 12, p. 836-843, 2000.

RISHER, J. F.; AMLER, S. N. Mercury exposure: evaluation and intervention the inappropriate use of chelating agents in the diagnosis and treatment of putative mercury poisoning. **Neurotoxicology**, Park Forest South, v. 26, n. 4, p. 691-699, 2005.

RISSANEN, T. et al. Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid, and the risk of acute coronary events: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. **Circulation**, Dallas, v. 102, n. 22, p. 2677-2679, 2000.

ROCK, C. L. Responsiveness of serum carotenoids to a high-vegetable diet intervention designed to prevent breast cancer recurrence. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, Philadelphia, v. 6, n. 8, p. 617-623, 1997.

RODRIGUES, J. L. et al. Trace element levels in whole blood of riparian villagers of the Brazilian Amazon. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 407, n. 13, p. 4168-4173, 2009.

ROEHRS, M. et al. The plasma retinol levels as pro-oxidant/oxidant agents in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Berlin, v. 24, n. 7, p. 2212-2218, 2009.

ROEHRS, M. et al. The relationships between exogenous and endogenous antioxidants with the lipid profile and oxidative damage in hemodialysis patients. **BMC Nephrology**, London, v. 12, p. 59, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3213013/?tool=pubmed>>. Acesso em 26 março de 2012.

ROSBORG, I. et al. Trace element pattern in patients with fibromyalgia. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 385, n. 1-3, p. 20-27, 2007.

ROULET, M. et al. Methyl mercury in water, seston, and epiphyton of an Amazonian river and its floodplain, Tapajós River, Brazil. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 261, n. 1-3, p. 43-59, 2000.

RYAN, R. P.; TERRY, C. E. **Toxicology desk reference**, 3rd ed, Vol. III. 1996. p. 1075-1079.

SÁNCHEZ, C. et al. Assessment of iron and zinc intake and related biochemical parameters in an adult Mediterranean population from southern Spain: influence of lifestyle factors. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 20, n. 2, p. 125-131, 2009.

SÁNCHEZ, C. et al. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: Influence of age, obesity and lifestyle factors, **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 408, n. 5, p. 1014-1020, 2010.

SANDBORGH-ENGLUND, G.; GEIJERSSTAM, E.; LOFTENIUS, A. Rapid communication: acute exposure to mercury from dental amalgam does not affect the levels of C-reactive protein or interleukin-6 in peripheral blood. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Washington DC, v. 66, n. 6, p. 495-499, 2003.

SANDSTEAD, H. H. Causes of zinc and iron deficiencies and their effects on the brain. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, p. S347-S349, 2000. Suplemento.

SANTOS, R. V. et al. Tapirs, tractors, and tapes: the changing economy and ecology of the Xavante Indians of Central Brazil. **Human Ecology**, Québec, v. 25, n. 1, p. 545-566, 1997.

SASSA, S. Delta- aminolevulínico acid dehydratase assay. **Enzyme**, New York, v. 28, p. 133-145, 1982. Número especial.

SASSINE, M. P. et al. Manganese accentuates adverse mental health effects associated with alcohol use disorders. **Biological Psychiatry**, New York, v. 51, n. 11, p. 909-921, 2002.

SCHURZ, F.; SABATER-VILAR, M.; FINK-GREMMELS, J. Mutagenicity of mercury chloride and mechanisms of cellular defence: the role of metal-binding proteins. **Mutagenesis**, Oxford, v. 15, n. 6, p. 525-530, 2000.

SCOTT, K. J. et al The correlation between intake of lutein, lycopene and b-carotene from vegetables and fruits and concentrations in blood plasma. **The British Journal of Nutrition**, New York, v. 75, n. 3, p. 409-418, 1996.

SIES, H. et al. Oxidation in the NADP system and release of GSSG from hemoglobin-free perfused rat liver during peroxidatic oxidation of glutathione by hydroperoxides. **Federation of European Biochemical Societies**, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 171-175, 1972.

SILBERGELD, E. K.; SILVA, I. A.; NYLAND, J. F. Mercury and autoimmunity: implications for occupational and environmental health. **Toxicology and Applied. Pharmacology**, New York, v. 207, n. 2, p. 282-292, 2005.

SILVA, C. R.; ANTUNES, L. M.; BIANCHI, M. L. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. **Pharmacology Research**, London, v. 43, n. 6, p. 561-566, 2001.

SILVA, I. A. et al. Mercury exposure, malaria, and serum antinuclear/ antinucleolar antibodies in Amazon populations in Brazil: a cross-sectional study. **Environmental. Health**, London, v. 3, n. 1, p. 11, 2004.

SIMONETTI, P. et al. Effect of alcohol intake on lipids and fat-soluble vitamins in blood. **Minerva Medica**, Torino, v. 84, n. 9, p. 447-452, 1993.

SMITH, D. A. et al. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. **Circulation**, Dallas, v. 104, n. 7, p. 746-749, 2001.

SQUITTI, R. et al. Ceruloplasmin fragmentation is implicated in “free” copper deregulation of Alzheimer’s disease. **Prion**, New York, v. 2, n. 1, p. 23-27, 2008.

SONG, W, et al. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 199, n. 3, p. 389–397, 2010.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1740, n. 2, p. 101-107, 2005.

STOCKER, R.; KEANEY, J. F. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. **Physiological Reviews**, Washington, v. 84, n. 4, p. 1381-1478, 2004.

STRYKER, W. S. et al. The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. **American Journal of Epidemiology**, New York, v. 127, n. 2, p. 283–296, 1988.

SUZUKI, K. T.; SASAKURA, C.; YONEDA, S. Binding sites for the (Hg-Se) complex on selenoprotein P. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1429, n. 1, p. 102-112, 1998.

TAKEDA, A.; SAWASHITA, J.; OKADA, S. Biological half-lives of zinc and manganese in rat brain. **Brain Research**, Amsterdam, v. 695, n. 1, p. 53–58, 1995.

TAVARES, L. M. et al. Desempenho de crianças ribeirinhas da Amazônia, Brasil, expostas moderadamente ao mercúrio em testes para avaliação de desenvolvimento neurológico. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, p. 1160-1167, 2005.

TEBO, J. M.; MORTENSEN, R. F. Internalization and degradation of receptor bound C-reactive protein by U-937 cells: induction of H₂O₂ production and tumoricidal activity. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1095, n. 3, p. 210–216, 1991.

TEMPLETON, D. M.; SUNDERMAN, F. W.; HERBER, R. F. M. Tentative reference values for nickel concentrations in human serum, plasma, blood and urine: evaluation according to the TRACY protocol. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 148, n. 2-3, p. 243–251, 1994.

TERRÉS-MARTOS, C. et al. Determination of copper levels in serum of healthy subjects by atomic absorption spectrometry. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 98, n. 1, p. 97-103, 1997.

TIIDUS, P. M.; HOUSTON, M. E. Vitamin E status does not affect the responses to exercise training and acute exercise in female rats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 123, n. 5, p. 834-840, 1993.

THURNHAM, D. I.; NORTHROP-CLEWES, C. A.; CHOPRA, M. Biomarkers of vegetable and fruit intakes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 68, n. 3, p. 756-758, 1998.

TOPINKA, J. et al. Biomarkers of air pollution exposure: A study of policemen in Prague. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 624, n. 1-2, p. 9-17, 2007.

TSOU, T. C. et al. Zinc oxide particles induce inflammatory responses in vascular endothelial cells via NF- κ B signaling. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 183, n. 1-3, p. 182-188, 2010.

USEPA, *United State Environmental Protection Agency*. **Integrated Risk Information Systems (IRIS) for selenium**. National Centre for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC, 2002, 444p.

VAHTER, M. et al. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. **Environmental. Research**, New York, v. 104, n. 1, p. 85-95, 2007.

VALENTINI, J. et al. Human erythrocyte σ -aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress in haemodialysis patients. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v. 40, n. 9-10, p. 591-594, 2007.

VALENTINI, J. et al. The influence of the hemodialysis time treatment under oxidative stress biomarkers in chronic renal failure patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, New York, v. 62, n. 6, p. 378-382, 2008.

VALENTINI, J. et al. Sub-chronic exposure to methylmercury at low levels decreases butyrylcholinesterase activity in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, Copenhagen, v. 106, n. 2, p. 95-99, 2009.

VALLEE, B. L.; FALCHUK, K. H. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiological Reviews**, Washington, v. 73, n. 1, p. 79-118, 1993.

VAS, J.; MONESTIER, M. Immunology of mercury. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1143, p. 240-267, 2008. Número especial.

VEIGA, M. M.; MEECH, J. A.; ONATE, N. Mercury pollution from deforestation. **Nature**, London, v. 368, n. 6474, p. 816-817, 1994.

VIRTANEN, J. K. et al. Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, Dallas, v. 25, n. 1, p. 228–233, 2005.

VOLANAKIS, J. E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. **Molecular Immunology**, London, v. 38, n. 2-3, p. 189-197, 2001.

WALTER, F. A.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes**. 2º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009, p. 25-59.

WEI, W.; KIM, Y.; BOUDREAU, N. Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988–1994. **American Journal of Public Health**, Washington DC, v. 91, n. 2, p. 258–264, 2001.

WHO. World Health Organisation. Obesity, preventing and managing the global epidemic: Report of the WHO consultation of obesity. In: Report of the WHO consultation of obesity, **World Health Organization**, Geneva, 1997. 234 p.

WINKLHOFER-ROOB, B. M, VAN'T HOF, M. A, SHMERLING, D. H. Reference values for plasma concentrations of vitamins E, A and carotenoids in a Swiss population from infancy to adulthood, adjusted for seasonal influences. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v. 43, n. 1, p. 146–153, 1997.

WU, J.; RICKER, M.; MUENCH, J. Copper deficiency as cause of unexplained hematologic and neurologic deficits in patient with prior gastrointestinal surgery. **Journal of the American Board of Family Medicine**, Lexington, v. 19, n. 2, p. 191-194, 2006.

YEH, J. H. et al. 2004. Mercury-induced Ca²⁺ increase and cytotoxicity in renal tubular cells. **Life Sciences**, Oxford, v. 74, n. 16, p. 2075–2083, 2004.

YOKOO, E. M. et al. Low level methyl mercury exposure affects neuropsychological functions in adults. **Environmental Health**, London, v. 2, n. 1, p. 8, 2003.

YONEDA, S.; SUZUKI, K. T. Equimolar Hg–Se complex binds to selenoprotein P. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 231, n. 1, p. 7–11, 1997a.

YONEDA, S.; SUZUKI, K. T. Detoxification of mercury by selenium by binding of equimolar Hg–Se complex to a specific plasma protein. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 143, n. 2, p. 274–280, 1997b.

YOSHIZAWA, K. et al. Mercury and the risk of coronary heart disease in men. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 347, n. 22, p. 1755-1760, 2002.

YOUNG, A.; LOWE, G. M. Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 385, n. 1, p. 20-27, 2001.

ZALUPS, R. K.; LASH, L. H. Depletion of glutathione in the kidney and the renal disposition of administered inorganic mercury. **Drug Metabolism and Disposition: the biological fate of chemicals**, New York, v. 25, n. 2, p. 516–523, 1997.

ZALUPS, R. K. Molecular interactions with mercury in the kidney. **Pharmacological Reviews**, Baltimore, v. 52, n. 1, p. 113-143, 2000.

ZHENG W.; KIM, H.; ZHAO, Q. Comparative toxicokinetics of manganese chloride and methylcyclo-pentadienyl Mn tricarbonyl in male Sprague–Dawley rats. **Toxicological Sciences**, Orlando, v. 54, n. 2, p. 295–301, 2000.

ZHENG, W. et al. Biomarkers of manganese intoxication. **Neurotoxicology**, Park Forest South, v. 32, n. 1, p. 1-8, 2011.

ZIOUZENKOVA, O. et al. Lack of correlation between the alpha-tocopherol content of plasma and LDL, but high correlations for gamma-tocopherol and carotenoids. **Journal of Lipid Research**, Memphis, v. 37, n. 9, p. 1936–1946, 1996.

9. ANEXOS

Anexo 9.1 Aprovação do CEP da FCFRP-USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
<p>Ofício CEP/FCFRP nº. 043/2009 dfav</p>		
<p>Ribeirão Preto, 17 de novembro de 2009.</p>		
<p>Ilma. Sra. PROF. DR. FERNANDO BARBOSA JUNIOR/ JULIANA VALENTINI Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP</p>		
<p>Assunto: Aprovação de protocolo de pesquisa.</p>		
<p>Prezado Professor,</p>		
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa da FCFRP/USP, em sua 74ª Sessão Ordinária, realizada em 17/11/2009, <u>aprovou</u> o projeto de pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE TOXICIDADE DA EXPOSIÇÃO AO MERCÚRIO EM POPULAÇÕES RIBEIRINHAS DA AMAZÔNIA", apresentado por Vossa Senhoria a este Comitê, Protocolo CEP/FCFRP nº. 132.</p>		
<p>Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP o <u>relatório final da pesquisa</u> e a <u>publicação de seu resultado</u>, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou interrupção do mesmo.</p>		
<p>Atenciosamente,</p>		
<p> Prof.ª Dr.ª MARIA REGINA TORQUETI Coordenadora do CEP - FCFRP/USP</p>		
<p><small>Avenida do Café S/N - Monte Alegre - CEP 14040-903 - Ribeirão Preto - SP Comitê de Ética em Pesquisa - cep@fcfrp.usp.br Fone: (16) 3602-4213 ou 3602-4216 - Fax: (16) 3602-4892</small></p>		