



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

GUSTAVO FREITAS DE SOUSA VIANA

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO MANGANÊS POR
MARCADORES NÃO INVASIVOS E EFEITOS NEUROPSICOLÓGICOS
EM ADULTOS

SALVADOR
2013

GUSTAVO FREITAS DE SOUSA VIANA

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO MANGANÊS POR
MARCADORES NÃO INVASIVOS E EFEITOS NEUROPSICOLÓGICOS
EM ADULTOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Bahia como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Farmácia para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Menezes Filho.

SALVADOR
2013

Sistema de Bibliotecas - UFBA

Viana, Gustavo Freitas de Sousa.

Avaliação da exposição ambiental ao manganês por marcadores não invasivos e efeitos neuropsicológicos em adultos / Gustavo Freitas de Sousa Viana. - 2013.
95 f.: il.

Inclui apêndices.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Menezes Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Salvador, 2013.

1. Manganês - Aspectos ambientais. 2. Indicadores ambientais. 3. Efeito neuropsicológico.
4. População. 5. Cabelo. I. Menezes Filho, José Antonio. II. Universidade Federal da Bahia.
Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD - 615.91

CDU - 615.91

GUSTAVO FREITAS DE SOUSA VIANA

**AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL AO MANGANÊS POR
MARCADORES NÃO INVASIVOS E EFEITOS NEUROPSICOLÓGICOS EM
ADULTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Bahia como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Farmácia para obtenção do título de mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Antonio Menezes Filho (Orientador)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Marcelo Santos Castilho
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Sandra de Souza Hacon
Fiocruz – RJ

Aprovada em: 21 de Março de 2013

Dedico esta Dissertação aos meus pais, Jorge e
Rosângela, por sempre acreditar, incentivar e
proporcionar o melhor da educação aos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

A caminhada foi longa e árdua, mas certamente recompensadora. Por isso, é inevitável agradecer a todos aqueles que sempre me apoiaram e ajudaram nesta jornada.

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar presente em minha vida!

Aos meus pais, Jorge e Rosângela, que nos ensinamentos diários sempre me educaram da melhor forma possível. Foram eles também os responsáveis por estimular a grande dedicação que tenho pelos estudos.

Aos meus irmãos, Mayanna e Leandro, que mesmo à distância sempre representaram o verdadeiro conceito da palavra irmão.

À Roberta, que por mais de 7 anos sempre estive ao meu lado, incentivando-me e ajudando-me nas tarefas diárias da vida e da faculdade. Ajudou-me a superar, com seu amor e carinho, todos os momentos de dificuldades encontrados durante esta jornada.

Aos meus avós, Geonísio, Jovita e Silvana, que através de suas atitudes simples me ensinaram a tomá-los como exemplo. À vovô Moreira (in memoriam), que mesmo com “pouco estudo” ficaria eternamente feliz em poder presenciar esta grandiosa conquista de seu neto e afilhado.

Aos demais familiares, em especial aos meus primos e tios, que demonstram diariamente como é bom ter uma FAMÍLIA.

Ao meu orientador, Antonio Menezes, por proporcionar ensinamentos valiosos que permitiram a realização deste trabalho. Sua experiência de campo foi fundamental para direcionar os primeiros passos nas comunidades.

A todos os colegas do LabTox (Nathália, Sérgio, Juliana, Vanesca, Diego, Lorena, Rodrigo e Mariana), por terem me auxiliado desde as coletas em campo até as realizações das análises laboratoriais. Na verdade, estas pessoas são mais do que colegas, são verdadeiros irmãos com os quais sempre espero contar.

À equipe do Neurotox e Neuroclíc, em especial Neander, Chrissie, Gustavo Siquara, Lucas, Anna Paula, Ana Elisa, Caroline e Marina. Essas pessoas são mais do que simples parceiros, já que sem elas seria impossível realizar as avaliações neuropsicológicas tão essenciais para o desenrolar deste projeto.

Aos colegas do PPGFAR, pela parceria na caminhada e por compartilhar comigo as dificuldades que enfrentei durante as coletas e as análises.

Aos parceiros do projeto, que atuaram junto às comunidades ajudando-nos a conquistar a confiança da população. Em especial, agradeço às professoras Junia e Ana Karina e suas respectivas ACC's "Saúde e Qualidade de Vida" e "Práticas educativas em atenção à saúde de mulher", que atuaram em 2011 e 2012 em Santa Luzia e Cotegipe levando informações importantes para a população local.

Às comunidades de Santa Luzia e Cotegipe, por nos receberem de braços abertos e acreditarem na nossa proposta.

Aos líderes comunitários, professores, diretores e funcionários das escolas locais, especialmente D. Rita, Cleidson, Tetinha, Marilúcia, Eliana, D. Raimunda e Gladin.

A todos os voluntários, por suportar pacientemente as avaliações e coletas, minha eterna gratidão.

A todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram durante esses dois anos de mestrado, agradeço.

Por fim, agradeço duplamente à FAPESB, pelo financiamento do projeto (Edital FAPESB 025/2010 – PPP, Pedido n° 449/2011) e pela bolsa de mestrado (Pedido n° 1176/2011).

“Todas as substâncias são venenos; não há nenhuma que não seja um veneno. A dose certa diferencia o veneno de um remédio.”

Philippus Aureolus Theophrastus
Bombastus von Hohenheim
(Paracelsus – 1493-1541)

RESUMO

O Manganês (Mn) é um elemento essencial aos humanos e, devido a esta essencialidade, seus níveis são mantidos em concentrações biológicas ótimas através de um mecanismo homeostático eficaz. O excesso de Mn no organismo, por outro lado, é prejudicial e pode desencadear alterações no sistema nervoso central, já que o Mn é um elemento potencialmente neurotóxico. A avaliação da exposição ocupacional e ambiental ao Mn tem sido feita através de biomarcadores de exposição; todavia, não há um consenso do biomarcador ideal para se avaliar os efeitos neuropsicológicos desencadeados pela exposição crônica a esta substância. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a associação entre efeitos neuropsicológicos em adultos expostos ambientalmente ao Mn e os níveis endógenos deste metal mensurados através de quatro biomarcadores não invasivos de exposição. Foram incluídas 89 pessoas residentes em duas comunidades (Cotegipe e Santa Luzia) localizadas nas proximidades de uma indústria de ligas de ferro-manganês. Os níveis de Mn em cabelo (MnC), cabelo axilar (MnAx), unha (MnUn) e saliva (MnSal) foram determinados por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e utilizados como biomarcadores de exposição. Como medida de avaliação de comprometimento neuropsicológico, uma bateria de testes neuropsicológicos foi empregada para avaliar o desempenho em funções motoras, executivas, cognitivas, atenção e memória da população de estudo. Os níveis de Mn (média \pm desvio padrão) quantificados nas amostras de cabelo, cabelo axilar, unha e saliva, independente da comunidade, foram $9,2 \pm 9,4$ $\mu\text{g/g}$, $22,2 \pm 21,0$ $\mu\text{g/g}$, $6,4 \pm 4,1$ $\mu\text{g/g}$ e $6,3 \pm 10,4$ $\mu\text{g/L}$, respectivamente. Diferenças estatísticas significativas foram observadas entre os níveis de MnC, MnAx e MnUn de acordo as comunidades (Santa Luzia > Cotegipe). Análise de correlação de Spearman entre os biomarcadores demonstrou uma moderada correlação linear positiva entre os níveis de MnC e MnUn ($\rho=0,473$; $p<0,001$) e entre MnAx e MnSal ($\rho=0,547$; $p<0,05$). Fortes correlações lineares positivas foram observadas entre MnC e MnAx ($\rho=0,703$; $p<0,01$) e entre MnAx e MnUn ($\rho=0,792$; $p<0,001$). Quanto ao desempenho nos testes neuropsicológicos, ampla variabilidade foi observada na população de estudo. Apenas o desempenho intelectual diferenciou-se entre as comunidades. Correlações significativas foram observadas entre MnC, MnAx e

MnUn com o desempenho em diversos testes neuropsicológicos. Análise de regressão linear multivariada demonstrou, independente do sexo, escolaridade e localidade de residência, uma associação inversa entre o log MnC e QI ($\beta = -4,763$ [IC95% $-9,171$ a $-0,355$]) e entre o log MnUn e memória operacional visual ($\beta = -3,333$ [IC95% $-6,148$ a $-0,519$]). Associação direta foi observada entre o log MnUn e o tempo de execução da tarefa que avalia a flexibilidade cognitiva ($\beta = 56,293$ [IC95% $2,405$ a $110,182$]). Esses resultados demonstram que a exposição excessiva ao Mn tem comprometido algumas funções neuropsicológicas dos adultos dessas comunidades, indicando a necessidade de se instalar medidas que minimizem a emissão atmosférica do Mn para amenizar os impactos na saúde da população local.

Palavras-chave: Manganês. Biomarcadores de exposição. Efeitos neuropsicológicos. Exposição ambiental. Cabelo. Unha. Saliva. Cabelo axilar.

ABSTRACT

Manganese (Mn) is an essential element to humans and due to this essentiality its levels are maintained at optimal concentrations through an effective homeostatic mechanism. The excess of Mn in the body, however, is harmful and may trigger changes in the central nervous system, since Mn is a potentially neurotoxic element. The assessment of occupational and environmental Mn exposure has been done by biomarkers of exposure, yet there is no consensus on the ideal biomarker to assess neuropsychological effects triggered by chronic exposure to this substance. This study aims to evaluate the association between neuropsychological effects in Mn environmentally exposed adults and the endogenous levels of this metal measured by four noninvasive biomarkers of exposure. Eighty-nine people living in two communities (Cotegipe and Santa Luzia) located in the vicinity of an iron-manganese alloy plant were included. Mn levels in hair (MnH), axillary hair (MnAx), fingernail (MnN) and saliva (MnSal) were measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry and used as biomarkers of exposure. As means to assess neuropsychological impairment, a battery of neuropsychological tests was used to evaluate the performance in motor, executive and cognitive functions, attention and memory in the studied population. Mn levels (mean±standard deviation) quantified in hair, axillary hair, nail and saliva specimens, irrespective of the community, were 9.2±9.4 µg/g, 22.2±21.0 µg/g, 6.4±4.1 µg/g and 6.3±10.4 µg/L, respectively. Significant statistical differences were observed between the levels of MnH, MnAx and MnN according to the communities (Santa Luzia > Cotegipe). Spearman correlation analysis among the biomarkers showed a mild positive linear correlation between the levels of MnH and MnN ($\rho=0.473$, $p<0.001$) and between MnAx and MnSal ($\rho=0.547$, $p<0.05$) levels. Strong positive correlations were observed between MnH and MnAx ($\rho=0.703$, $p<0.01$) and MnAx and MnN ($\rho=0.792$, $p<0.001$) levels. According to performances on neuropsychological tests, wide variability was observed in the studied population. Only the intellectual performance differed between the communities. Significant correlations were observed among MnH, MnAx and MnN with the performances in several neuropsychological tests. Multivariate linear regression analysis showed, regardless to sex, education and location of residence, an inverse association between log MnH and IQ ($\beta= -4.763$

[CI95% -9.171 to -0.355]) and between log MnN and visual working memory ($\beta = -3.333$ [CI95% -6.148 to -0.519]). Direct association was observed between log MnN and execution time of the cognitive flexibility task ($\beta = 56.293$ [CI95% 2.405 to 110.182]). These results showed that excessive exposure to Mn has detrimental effect on neuropsychological functions of adults living in these communities, indicating the need to install measures to minimize Mn atmospheric emissions and to ameliorate the health impacts on the local population.

Key-words: Manganese. Biomarkers of exposure. Neuropsychological effects. Environmental exposure. Hair. Fingernail. Saliva. Axillary hair.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Localização esquemática das comunidades de Santa Luzia e Cotegipe, município de Simões Filho, BA, e seus posicionamentos em relação à fonte emissora.....26
- Figura 2 – Correlações significantes entre os níveis de MnC e MnAx (a), MnC e MnUn (b), MnUn e MnAx (c) e MnSal e MnAx (d). Coeficiente de correlação de Spearman e nível de significância estão expressos.....38
- Figura 3 – Boxplot da distribuição do coeficiente de inteligência de acordo com local de residência.....59
- Figura 4 – Histograma da distribuição dos resíduos dos modelos multivariados para desempenho intelectual (a), memória operacional visual (b) e flexibilidade cognitiva (c).....65
- Figura 5 – Diagramas parciais entre os resíduos dos biomarcadores contra os resíduos do QI (a), memória operacional visual (b) e flexibilidade cognitiva (c) e seus respectivos coeficientes de determinação (r^2).....66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Programa de temperatura e parâmetros analíticos utilizados para a determinação de Mn.....	32
Tabela 2 – Características sociodemográficas dos voluntários de acordo a comunidade.....	34
Tabela 3 – Níveis dos biomarcadores do Mn de acordo com as principais características sociodemográficas. Dados expressos em mediana (min – máx).....	36
Tabela 4 – Matriz de correlação de Spearman entre os biomarcadores de exposição ao Mn e características sociodemográficas contínuas.....	39
Tabela 5 – Valores de Mn (média ± desvio padrão) determinados em cabelo, cabelo axilar, unha e saliva de adultos no presente estudo e pela literatura científica.....	40
Tabela 6 – Testes e variáveis de acordo as funções neuropsicológicas avaliadas...	56
Tabela 7 – Desempenho nos testes neuropsicológicos de acordo a função e comunidade de estudo.....	60
Tabela 8 – Matriz de correlação de Spearman entre os biomarcadores de exposição ao Mn e os escores no diversos testes de avaliação das funções neuropsicológicas.....	62
Tabela 9 – Resumo dos modelos de regressão linear multivariada tendo o Log MnC como preditor para o desempenho intelectual (n=81), memória operacional visual (n=83) e função motora (n=83).....	64
Tabela 10 – Resumo dos modelos de regressão linear multivariada tendo o Log MnUn como preditor para a memória operacional visual (n=73), função motora (n=73) e flexibilidade cognitiva (n=67).....	64
Tabela 11 – Desempenho neuropsicológico e valores validados para adultos de acordo o teste.....	68
Tabela 12 – Desempenho de trabalhadores expostos ao Mn em alguns testes neuropsicológicos.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	Atividade Curricular em Comunidade
Ca ²⁺	Cálcio divalente
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DMT-1	Transportador de metal divalente
EAA-FG	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
F.C.	Flexibilidade cognitiva
GABA	Ácido γ -aminobutírico
HNO ₃	Ácido nítrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
KS	Kolmogorov-Smirnov
Log	Logaritmo
M.D.	Mão dominante
M.N.D.	Mão não dominante
M.O.	Memória operacional
Mn	Manganês
MnAx	Manganês no cabelo axilar
MnC	Manganês no cabelo
MnS	Manganês sanguíneo
MnSal	Manganês na saliva
MnU	Manganês urinário
MnUn	Manganês nas unhas
MW	Mann Whitney
PIB	Produto Interno Bruto
QI	Coeficiente de inteligência
RAVLT	Teste de aprendizado auditivo verbal de Rey
RLM	Regressão linear multivariada
TAVIS-3	Teste de atenção visual versão 3
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
V.P.	Velocidade de processamento
WAIS	Escala de inteligência Wechsler para adultos
χ^2	Qui quadrado

SUMÁRIO

REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
Essencialidade e toxicologia do manganês.....	15
Exposição ao manganês e efeitos neurotóxicos.....	17
Biomarcadores de exposição ao manganês.....	19
OBJETIVOS.....	22
Objetivo Geral.....	22
Objetivos Específicos.....	22
ABORDAGEM DO PROBLEMA E ORGANIZAÇÃO DO ESTUDO.....	22
CAPÍTULO 1: Monitorização biológica através de biomarcadores não invasivos em adultos de duas comunidades expostas ao manganês por via atmosférica.....	24
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
População e desenho do estudo.....	25
Critérios de inclusão e questões éticas.....	27
Abordagem das comunidades.....	27
Informações sociodemográficas.....	28
Coleta das amostras biológicas.....	28
Instrumentos.....	29
Reagentes, soluções e vidrarias.....	30
Preparação e análise das amostras biológicas.....	30
Análise de dados.....	32
RESULTADOS.....	33
DISCUSSÃO.....	39
CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
CAPÍTULO 2: Biomarcadores não invasivos de exposição ao manganês e efeitos neuropsicológicos em adultos ambientalmente expostos.....	53
INTRODUÇÃO.....	53
MATERIAIS E MÉTODOS.....	54
População de estudo.....	54
Avaliação da exposição ao manganês.....	55
Avaliação neuropsicológica.....	55
Análise de dados.....	58
RESULTADOS.....	59
DISCUSSÃO.....	66
CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS.....	81
APÊNDICE A – Questionário Sociodemográfico.....	89
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	91
APÊNDICE C – Parecer do Comitê de Ética.....	93

REFERENCIAL TEÓRICO

Essencialidade e toxicologia do manganês

O manganês (Mn) faz parte dos elementos essenciais aos seres vivos, participando de funções relacionadas à formação de ossos, funções reprodutivas e metabolismo de carboidratos e lipídios, tendo papel como cofator da hexocinase (ASCHNER; ASCHNER, 2005; ATSDR, 2008; SANTAMARIA, 2008). No cérebro, o Mn é o cofator da enzima antioxidante superóxido dismutase e de enzimas envolvidas no metabolismo e síntese de neurotransmissores (ASCHNER et al, 2007). O desequilíbrio nos níveis de Mn, portanto, pode alterar as funções fisiológicas mediadas por tais enzimas.

Como toda substância essencial, a homeostase do organismo para com o Mn é fundamental para a manutenção dos níveis biológicos deste elemento em concentrações fisiológicas, evitando assim sua carência e seu excesso. Este mecanismo de manutenção homeostática envolve o sistema responsável pelo metabolismo do ferro, principalmente devido às semelhanças químicas compartilhadas por esses elementos, como o estado de valência (2+ e 3+) e o raio iônico. A absorção do Mn pelos enterócitos (mediante proteína transportadora de metal divalente – DMT-1) e a elevada capacidade de se ligar à transferrina (proteína responsável pelo transporte do ferro não heme no organismo) são exemplos dos mecanismos homeostáticos responsáveis pela manutenção dos níveis de ferro e manganês no organismo (ROTH, 2006).

A principal fonte de exposição ao Mn para a população em geral é através da ingestão de alimentos. Cereais, vegetais, frutas e bebidas como vinho, chá e café são exemplos de alimentos ricos em Mn. A quantidade ingerida desse mineral, entretanto, depende dos hábitos alimentares de cada pessoa, mas estima-se que um adulto consuma entre 0,7 a 10,9 miligramas de Mn por dia através da dieta (ATSDR, 2008), sendo que a ingestão adequada para adultos é 2,3 e 1,8 mg/dia para homens e mulheres, respectivamente (NATIONAL ACADEMIC OF SCIENCES, 2001). Mesmo com a ampla variabilidade na ingestão diária, geralmente os níveis biológicos de Mn são mantidos estáveis graças ao controle da absorção gastrointestinal e excreção via bile. Apenas uma pequena porção (aproximadamente 1 a 5%) de todo Mn ingerido é absorvido via trato gastrointestinal (ASCHNER;

ASCHNER, 2005; ROTH, 2006; SARC; LUCCHINI, 2007). No processo de excreção, a bile tem papel fundamental, uma vez que é responsável pela eliminação, via fezes, de mais de 95% do Mn presente no organismo (ASCHNER et al, 2007; FITSANAKIS et al, 2006).

A deficiência de Mn em humanos é uma condição rara, porém relatos na literatura demonstram que baixa ingestão deste mineral pode levar a retardo no crescimento, alterações nos níveis de glicose e falhas no sistema reprodutivo (US-EPA, 1984; FITSANAKIS et al, 2006; WHO, 2011). O que mais se destaca no meio científico em se tratando de Mn e efeito na saúde de humanos, entretanto, são os efeitos neurotóxicos deste elemento decorrentes de exposições ocupacionais e ambientais crônicas. Alterações motoras, neurocomportamentais e psiquiátricas (como depressão e agitação), além de déficit cognitivo, são os principais efeitos estudados em decorrência da exposição ao Mn (ASCHNER et al, 2007; BOUCHARD et al, 2007; BOUCHARD et al, 2011; MENEZES-FILHO et al, 2011; MYERS et al, 2003; RODRÍGUEZ-AGUDELO et al, 2006). Tais efeitos, todavia, diferem a depender da faixa etária da população exposta. Alterações das funções motoras são descritas principalmente em adultos, ao passo que funções cognitivas e comportamentais em crianças (ZONI et al, 2007).

As alterações ao nível do sistema nervoso central que ocorrem em decorrência da exposição ao Mn resultam do acúmulo deste metal em certas regiões do cérebro. Em condições fisiológicas, o Mn chega ao cérebro através dos capilares cerebrais e do líquido, oriundo do sangue (ASCHNER et al, 2007). Os mecanismos de transporte do Mn pelas células endoteliais da vasculatura cerebral e seu acúmulo nas células neuronais, entretanto, ainda não estão plenamente esclarecidos, mas acredita-se que a DMT-1, ferroportina e o transportador unidirecional de Ca^{2+} tenham papel importante. A teoria mais aceita é que a DMT-1 promova a entrada do Mn presente no sangue para o interior das células da vasculatura cerebral, de onde é externalizado pela ferroportina para o líquido. O Mn do líquido, também por meio da DMT-1, entra nos neurônios e pode se acumular nas mitocôndrias graças ao transporte mediado pelo transportador unidirecional de Ca^{2+} (RIVERA-MANCÍA et al, 2011; ROTH, 2006).

Outra via de acesso do Mn ao cérebro tem sido demonstrada para exposições por via inalatória. Estudos experimentais com animais expostos a compostos de Mn têm revelado que este metal pode ter acesso ao cérebro através do transporte

axonal via nervo olfatório e trigêmeo, os quais possuem terminações nervosas na mucosa nasal que captam o Mn e o conduz até o bulbo olfatório e outras regiões cerebrais (BRENNEMAN et al, 2000; DORMAN et al, 2006).

As regiões cerebrais ricas em neurônios dopaminérgicos (especificamente os gânglios da base, composto pelo núcleo caudado, putâmen, globo pálido, substância nigra e núcleo subtalâmico) são aquelas que normalmente estão associadas ao acúmulo de Mn (RIVERA-MANCÍA et al, 2011). Evidências mostram que os efeitos tóxicos decorrentes deste acúmulo podem ser provenientes da capacidade oxidante do Mn, especialmente na sua forma trivalente. Como revisado por Burton e Guilarte (2009) e Rivera-Mancía e colaboradores (2011), o Mn trivalente pode ocasionar estresse oxidativo com oxidação da dopamina, resultando na incapacidade dos neurônios dopaminérgicos em liberar esse neurotransmissor na sinapse, o que pode estar associado com o comprometimento de função motora e demais funções controladas pelos gânglios da base (RACETTE et al, 2012).

Exposição ao manganês e efeito neurotóxico

A exposição ao Mn pode ocorrer de diversas formas, sendo a exposição via trato gastrointestinal a mais comum para a população em geral. Para fins de efeitos tóxicos, a exposição crônica por via respiratória talvez seja a de maior relevância, pois engloba a exposição ocupacional (sofrida por soldados, mineradores, trabalhadores de metalúrgica etc.) e ambiental (desfrutada por pessoas que residem próximo às minas de exploração de Mn e de indústrias metalúrgicas e aquelas expostas a inseticidas organometálicos, como maneb e mancozeb), estando ambas relacionadas a efeitos neuropsicológicos e neurotóxicos (ATSDR, 2008).

A exposição crônica ao Mn pode desencadear uma disfunção neurológica que é dependente da concentração e duração da exposição. A evolução dos sintomas clínicos decorrentes da exposição ao Mn pode ser dividida em três fases: na primeira são observados efeitos inespecíficos como astenia, anorexia, apatia, irritabilidade etc.; na fase intermediária, mudanças psicológicas e psicomotoras podem ser observadas; na terceira fase, se a exposição for mantida, pode-se desenvolver o quadro denominado Manganismo (MERGLER et al, 1994).

O manganismo, uma patologia decorrente da exposição ao Mn e caracterizada por sinais e sintomas clínicos semelhantes à Doença de Parkinson, é uma

manifestação que ocorre geralmente em trabalhadores de mineração, metalúrgica e fábrica de baterias. O acúmulo do Mn no cérebro como consequência da exposição inalatória, exacerbada e crônica é o responsável pelo desenvolvimento desta patologia (ATSDR, 2008). Sintomas comuns à Doença de Parkinson e ao manganismo incluem desequilíbrio na marcha, rigidez, tremores e bradicinesia, embora em casos de manganismo sejam comuns disfunções cognitivas e comportamentais antes das manifestações motoras (RIVERA-MANCÍA et al, 2011). Patologicamente também existem diferenças entre essas duas patologias, ainda que em ambas os gânglios da base estejam acometidos. A Doença de Parkinson é uma patologia neurodegenerativa em que há a perda de neurônios dopaminérgicos, principalmente da substância nigra, enquanto o manganismo caracteriza-se pelo acúmulo de Mn especialmente no globo pálido, o que pode resultar na oxidação da dopamina (BURTON; GUILARTE, 2009; RIVERA-MANCÍA et al, 2011).

Os efeitos tóxicos do Mn podem ser vistos por um longo período mesmo depois de cessada a exposição ao metal (BOWLER et al, 2011). Déficits neuromotores e cognitivos em ex-trabalhadores expostos ao Mn foram demonstrados por Bouchard e colaboradores (2007) através de diversos testes neuropsicológicos. Os efeitos desencadeados pelo Mn, portanto, persistem em função do tempo, prolongando o problema neurológico por longo período mesmo após o fim da exposição. O manganismo, por exemplo, é considerado uma doença evolutiva e irreversível (MERGLER et al, 1994).

Tanto os trabalhadores ocupacionalmente expostos quanto a população exposta ambientalmente apresentam riscos de desenvolver problemas neurológicos em decorrência da toxicidade do Mn (ATSDR, 2008); todavia, a devida atenção não é dada para os problemas ambientais. Diversos estudos têm demonstrado associação entre exposição ocupacional ao manganês e efeitos neurotóxicos (BAST-PETTERSEN et al, 2004; BOUCHARD et al, 2005; BOUCHARD et al, 2007; FLYNN; SUSI, 2009; MERGLER et al, 1994), mas são poucos os que avaliaram pessoas expostas ambientalmente com este propósito (MENEZES-FILHO et al, 2011; MERGLER, 1999; RODRÍQUEZ-AGUDELO et al, 2006).

Embora em ambas as situações as pessoas estejam expostas principalmente pela via respiratória, há diferenças notáveis entre a exposição ocupacional e ambiental ao Mn. A exposição ocupacional é geralmente maior e mais variável, estando frequentemente relacionada a um alto pico de exposição que ocorre no

ambiente de trabalho. A exposição ambiental, por outro lado, é consideravelmente menor, mais contínua e com menor variabilidade (MERGLER, 1999). Dada às diferenças que ocorrem entre tais formas de exposição, torna-se importante avaliar de maneira segregada as consequências resultantes de cada forma de exposição.

Biomarcadores de exposição ao manganês

A avaliação da exposição ao Mn tem sido feita através da utilização de diversos biomarcadores. Nenhum indicador bioquímico está atualmente disponível para a detecção de efeitos neurotóxicos do Mn (ATSDR, 2008), limitando o uso dos biomarcadores de efeito em detrimento aos biomarcadores de exposição. Manganês sanguíneo (MnS), Mn urinário (MnU), Mn em cabelo (MnC), em cabelo axilar (MnAx), unha (MnUn) e saliva (MnSal) são alguns dos biomarcadores de exposição empregados na avaliação da exposição ao Mn.

Embora existam alguns biomarcadores de exposição ao Mn disponíveis, não há um consenso do melhor a ser empregado para se avaliar as alterações neuropsicológicas decorrentes da exposição a este metal. O MnS, por exemplo, é um marcador invasivo de exposição que, embora bastante utilizado, tem apresentado resultados contraditórios na avaliação de tais efeitos (ROELS et al, 2012). Quanto aos biomarcadores não invasivos, o mais comumente utilizado para avaliação dos efeitos neuropsicológicos é o MnC, porém o MnU também tem sido empregado, como revisado por Menezes-Filho e colaboradores (2009b). Manganês em saliva, MnAx e MnUn, ainda que tenham sido empregados meramente na avaliação da exposição ao Mn (BADER et al, 1999; COWAN et al, 2009; GIL et al, 2011; LAOHAUDOMCHOK et al, 2011; MEHRA; JUNEJA, 2005; MENEZES et al, 2004; WANG et al, 2008; WONGWIT et al, 2004), não é de nosso conhecimento a existência de trabalhos que correlacionem esses biomarcadores a efeitos neuropsicológicos.

Um estudo recente compilou resultados de importantes trabalhos publicados em diferentes regiões do mundo sobre alterações motoras e cognitivas relacionadas ao Mn. Uma das principais contribuições deste trabalho relaciona-se à discussão sobre o biomarcador de exposição adequado. Para exposições ocupacionais, o MnS apresenta pouca consistência para caracterizar exposição individual; em exposições ambientais, a relevância do MnS é ainda menor e raramente está associado aos

efeitos neurocomportamentais desencadeados por este metal. Manganês em cabelo, por outro lado, tem demonstrado significativa relevância principalmente como biomarcador de exposição ambiental (ROELS et al, 2012).

Menezes-Filho e colaboradores (2009a) em seu estudo em uma comunidade ambientalmente exposta localizada próxima a uma planta de ferro-manganês em Simões Filho, região metropolitana de Salvador, Brasil, demonstraram altos níveis de MnC em crianças, fato que foi dependente de dois fatores: a proximidade da moradia com a planta metalúrgica e a direção dos ventos. Os níveis encontrados na população exposta foram de 15,20 µg Mn/g cabelo, contra 1,37 µg Mn/g cabelo para a população não exposta. Estudos complementares nesta mesma comunidade demonstraram que o MnC nas crianças correlacionou-se negativamente com o coeficiente de inteligência (QI) medido pelo teste WISC-III (*Wechsler Intelligence Scale for Children, version III*). Da mesma forma, a concentração de MnC de suas respectivas mães também correlacionou-se negativamente com o QI medido pelo teste Raven's (*Raven's Standard Progressive Matrices*) (MENEZES-FILHO et al, 2011).

Rodríguez-Agudelo e colaboradores (2006) não verificaram correlação entre a concentração de MnS e testes motores em pessoas expostas ambientalmente no México. Adicionalmente, Myers e colaboradores (2003) não evidenciaram correlação entre MnS e os resultados dos testes da bateria Luria-Nebraska após ajuste pelos confundidores. Uma meta análise de estudos epidemiológicos publicados de 1987 a 2008 revisou o desempenho cognitivo e neuromotor associado à exposição ocupacional ao manganês. Este estudo demonstrou que déficits nos desempenhos cognitivos e neuromotores nem sempre estiveram relacionados ao MnS e que este indicador de dose interna não apresentou melhor relação com os desempenhos neurológicos do que a concentração de manganês no ar (MEYER-BARON et al, 2009).

Biomarcadores não invasivos menos convencionais tem sido alvo de alguns estudos que avaliaram a exposição (principalmente ocupacional) ao Mn. Wang e colaboradores (2008) utilizaram MnSal para avaliar a exposição ocupacional de soldadores. Nesse trabalho, 49 homens soldadores foram divididos em dois grupos de acordo com o nível de exposição ocupacional e 33 pessoas não expostas ocupacionalmente foram utilizadas como controle. Os resultados demonstraram que os níveis de MnSal foram significativamente maiores nos soldadores do que nos

controles e a variação dos níveis de Mn em saliva esteve associada com os níveis de Mn no ar do ambiente de trabalho. Adicionalmente, MnSal foi maior naqueles trabalhadores com 5 a 10 anos de exposição, se comparado àqueles com menos de 5 anos. Portanto, a determinação de MnSal demonstra ser promissora para a avaliação da exposição ocupacional ao Mn.

Bader e colaboradores (1999) utilizaram Mn em sangue, urina e cabelo axilar como marcadores de exposição ao Mn em 100 trabalhadores de uma fábrica de baterias. Os trabalhadores foram divididos em três grupos de acordo com as características de trabalho e comparados com 17 pessoas não expostas ocupacionalmente. Foram mensurados os níveis de Mn no ar nas áreas em que os três grupos de trabalhadores estavam expostos. Os níveis de Mn em cabelo axilar, baseado nos grupos, correlacionaram com as concentrações de Mn no ar do ambiente de trabalho. Estes resultados demonstram que o grupo mais exposto apresentou também maiores níveis de Mn em cabelo axilar.

A dosagem de Mn em unha também tem sido promissora na avaliação da exposição ocupacional a este metal, embora sejam poucos os estudos realizados com este propósito (LAOHAUDOMCHOK et al, 2011; MEHRA; JUNEJA, 2005; WONGWIT et al, 2004). Um estudo conduzido com 46 soldadores avaliou a utilidade dos níveis de Mn em unhas dos pés como biomarcador de exposição. Este estudo demonstrou que os níveis médios nas unhas de todos os dedos dos pés estiveram correlacionados com o índice de exposição cumulativo de 7 a 12 meses ($r=0,32$; $p=0,027$), ou seja, este biomarcador seria capaz de refletir uma exposição que ocorrera entre 7 e 12 meses anteriores à coleta do material biológico (LAOHAUDOMCHOK et al, 2011). Isto ocorre devido à baixa razão de crescimento das unhas (aproximadamente 3,47 e 1,62 milímetros por mês para as unhas das mãos e dos pés, respectivamente), o que faz com que esta matriz possa ser utilizada como biomarcador de exposição pregressa a metais (YAEMSIRI et al, 2010).

A correlação entre efeitos neuropsicológicos e os níveis de MnC tem sido superiores àqueles vistos com o MnS, especialmente em exposições ambientais. Além do MnC, a quantificação dos níveis de MnAx, MnUn e MnSal têm demonstrado serem bons marcadores não invasivos para avaliação da exposição ocupacional ao Mn. Trabalhos realizados em população ambientalmente exposta demonstraram boas correlações entre o MnC e efeitos neuropsicológicos desencadeados por este

metal; por outro lado, estudos que utilizaram Mn em cabelo axilar, unha e em saliva, apesar de promissores, são escassos para este tipo de população. Portanto, estudos que utilizem diversos biomarcadores não invasivos para avaliar os efeitos neuropsicológicos decorrentes da exposição ambiental ao Mn são úteis para se instalar medidas preventivas e evitar danos mais graves à saúde.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a associação entre efeitos neuropsicológicos em adultos expostos ambientalmente ao manganês e os níveis endógenos deste metal mensurados através de biomarcadores não invasivos de exposição.

Objetivos Específicos

- Avaliar a exposição ao manganês através de biomarcadores não invasivos (Mn em cabelo, cabelo axilar, unha e saliva) como indicadores de exposição recente e longo prazo.
- Identificar fatores determinantes associados aos níveis elevados de Mn na população adulta ambientalmente exposta.
- Avaliar o desempenho neuropsicológico nas funções cognitivas, executivas, motoras, de atenção e memória na população.
- Avaliar a associação entre os níveis de Mn no organismo, através dos quatro biomarcadores, e o desempenho em testes neuropsicológicos.

ABORDAGEM DO PROBLEMA E ORGANIZAÇÃO DO ESTUDO

O presente trabalho foi desenvolvido nas comunidades de Cotegipe e Santa Luzia, distritos do município de Simões Filho, região metropolitana de Salvador, Bahia. Situam-se nas proximidades de uma eletrossiderúrgica de ligas ferromanganês, anteriormente designada SIBRA S.A., hoje pertencente ao grupo Vale S.A.

A atividade industrial desenvolvida pela empresa resulta na emissão de poluentes para a atmosfera. Óxidos de metais pesados, juntamente com poluentes gasosos, predominam nas emissões atmosféricas que, mediante a ação dos ventos, são dispersos e atingem as localidades de Cotegipe, Santa Luzia e Mapele (MAGALHÃES, 2007; MENEZES-FILHO, 2009c). A exposição ambiental a estes poluentes, que ocorre predominantemente por via inalatória, pode ser um agravo à saúde da população local. O óxido de manganês, um dos principais constituintes desses poluentes, quando inalado em partículas de diâmetro de aproximadamente 1µm ou inferior, libera o Mn no saco alveolar (McKEEMAN, 2008) que, ao ser absorvido, pode desencadear efeitos neurotóxicos devido ao seu acúmulo no organismo. A avaliação da exposição a este metal, bem como a avaliação dos possíveis efeitos desencadeados pela sua exposição excessiva, torna-se importante para ajudar na prevenção de danos mais graves na população local.

O desenvolvimento desse trabalho está organizado em dois capítulos. O primeiro, intitulado “*Monitorização biológica através de biomarcadores não invasivos em adultos de duas comunidades expostas ao manganês por via atmosférica*”, descreve a contaminação humana pelo manganês, medida por meio de biomarcadores não invasivos de exposição, nas duas populações de estudo de acordo com importantes covariáveis. A utilidade desses biomarcadores é avaliada baseando-se nas correlações verificadas entre eles. O segundo capítulo, intitulado “*Biomarcadores não invasivos de exposição ao manganês e efeitos neuropsicológicos em adultos ambientalmente expostos*”, avalia a associação existente entre os níveis de Mn no cabelo, cabelo axilar, unha e saliva e o comprometimento neuropsicológico, discutindo a busca de um biomarcador ideal para se avaliar os efeitos decorrentes da exposição a este metal.

CAPÍTULO 1: Monitorização biológica através de biomarcadores não invasivos em adultos de duas comunidades expostas ao manganês por via atmosférica

INTRODUÇÃO

O manganês (Mn) é um elemento essencial aos seres vivos, sendo encontrado em todos os tecidos. Como cofator enzimático, participa de diversas funções fisiológicas importantes relacionadas ao metabolismo de carboidratos, lipídios, aminoácidos e proteínas (ASCHNER; ASCHNER, 2005). A manutenção dos seus níveis biológicos em concentrações ótimas (que deve ser de 4 a 15 µg de Mn por litro de sangue) (ATSDR, 2008) é fundamental para o perfeito funcionamento do organismo, sendo que um processo homeostático eficaz envolvendo principalmente mecanismos de absorção e eliminação é o responsável por esta manutenção (ROTH, 2006).

A principal via de exposição ao Mn para a população em geral é a alimentação (ATSDR, 2008). Apenas uma pequena porção (aproximadamente 1 a 5%) de todo Mn ingerido é absorvido via trato gastrointestinal (ASCHNER; ASCHNER, 2005; ROTH, 2006; SARC; LUCCHINI, 2007). No processo de excreção, a bile tem papel fundamental, uma vez que é a responsável pela eliminação, via fezes, de mais de 95% do Mn presente no organismo (ASCHNER et al, 2007; FITSANAKIS et al, 2006). A exposição ao Mn por via inalatória, por outro lado, pode fugir a este mecanismo homeostático e alcançar o cérebro diretamente por transporte axonal via nervo olfatório e trigêmeo (BRENNEMAN et al, 2000; DORMAN et al, 2006), podendo acumular-se neste órgão.

O tropismo, acúmulo e toxicidade do Mn em certas regiões cerebrais podem explicar os efeitos neurotóxicos desencadeados por esta substância. O Mn possui tropismo por regiões cerebrais ricas em neurônios dopaminérgicos, especialmente os gânglios da base (RIVERA-MANCÍA et al, 2011). O acúmulo deste metal no cérebro pode interferir em diversos sistemas de neurotransmissores, em especial nas sinapses dopaminérgicas, glutamatérgicas e GABAérgicas (BURTON; GUILARTE, 2009). Dados mais concretos estão relacionados à ação do Mn sobre o sistema dopaminérgico, como revisado por Burton e Guilarte (2009) e Rivera-Mancía e colaboradores (2011). O Mn, especialmente na forma trivalente, é capaz de oxidar a dopamina e comprometer a liberação desse neurotransmissor na sinapse, o que

pode estar associado com o comprometimento da função motora e demais funções controladas pelos gânglios da base (RACETTE et al, 2012).

Diversos estudos têm demonstrado comprometimento neuropsicológico associado aos altos níveis de Mn (para revisão, consultar Zoni e colaboradores, 2007). A avaliação da exposição a este metal tem sido realizada por biomarcadores de exposição, haja vista a inexistência de um marcador bioquímico disponível para a detecção de efeitos neurotóxicos desencadeados pelo Mn (ATSDR, 2008). Todavia, não há um consenso do biomarcador de exposição ideal para se avaliar as alterações neuropsicológicas desencadeadas por este metal. Manganês sanguíneo (MnS), Mn urinário (MnU), Mn em cabelo (MnC), em cabelo axilar (MnAx), unha (MnUn) e saliva (MnSal) são alguns desses biomarcadores empregados na avaliação da exposição ao Mn (BADER et al, 1999; BOTTA et al, 2006; GIL et al, 2011; LAOHAUDOMCHOK et al, 2011; MENEZES-FILHO et al, 2009a; MERGLER et al, 1994; WANG et al, 2008; WONGWIT et al, 2004).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a grau de exposição ao Mn através da determinação dos níveis de Mn em cabelo, cabelo axilar, unha e saliva em adultos de duas comunidades expostas ambientalmente por via respiratória. Este trabalho ainda tem como proposta fomentar a discussão científica na escolha do biomarcador ideal para se avaliar a exposição ao Mn, levando em considerações importantes determinantes ambientais.

MATERIAIS E MÉTODOS

População e desenho do estudo

O presente estudo, de desenho transversal, foi desenvolvido em duas comunidades (Cotegipe e Santa Luzia) que sofrem a influência da emissão atmosférica de poluentes de uma indústria de ligas ferro-manganês. A Vale S.A., localizada no município de Simões Filho, região metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil (Figura 1), promove a emissão de óxidos de metais pesados e poluentes gasosos que, mediante a ação dos ventos, atingem ambas as comunidades e expõe a população principalmente através da via respiratória (MAGALHÃES, 2007; MENEZES-FILHO, 2009c).

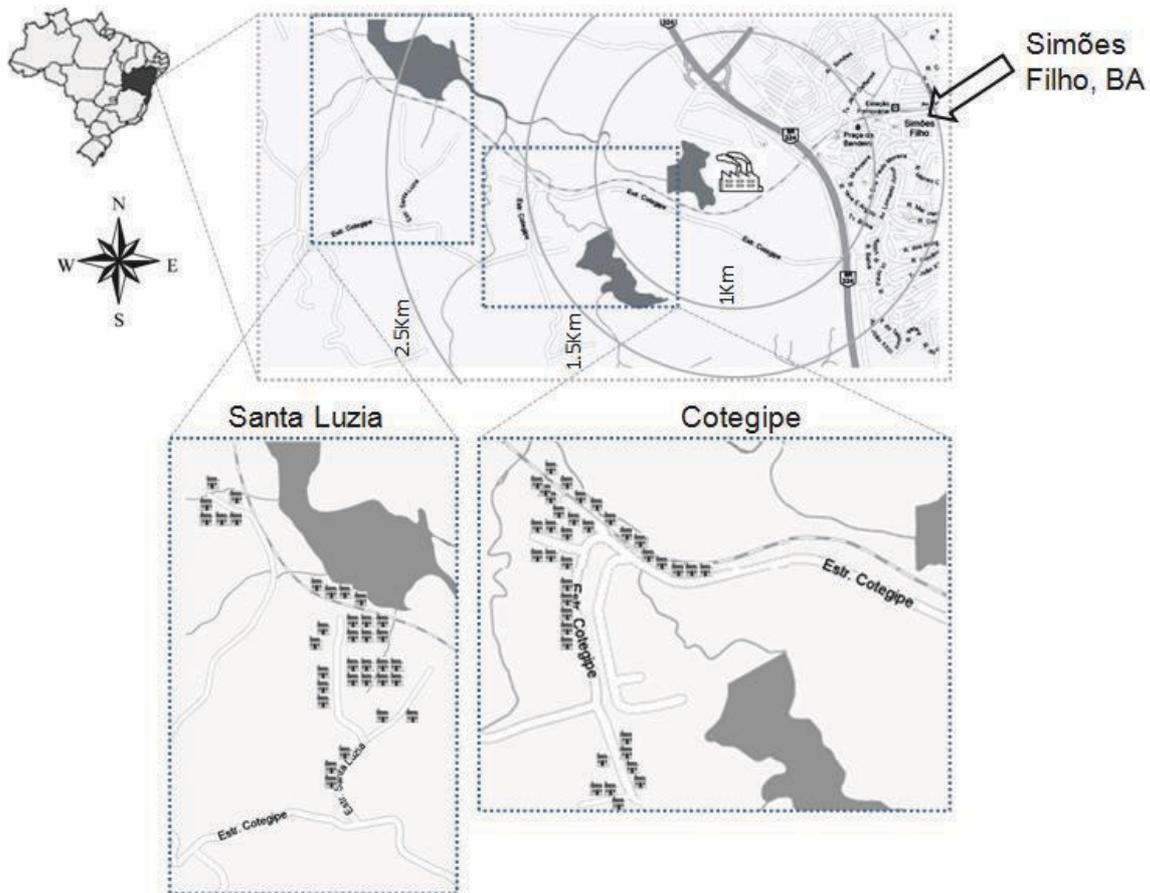


Figura 1: Localização esquemática das comunidades de Santa Luzia e Cotegipe, município de Simões Filho, BA, e seus posicionamentos em relação à fonte emissora.

De acordo o último censo demográfico realizado no ano de 2010 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o município de Simões Filho possui 118.047 habitantes, densidade demográfica de 586,65 habitantes/km², PIB per capita de R\$ 31.266,42 e IDH 0,730. Aproximadamente 31% dos domicílios particulares permanentes enquadram-se na situação de rendimento mensal domiciliar de 2 a 5 salários mínimos (IBGE, 2013).

Situadas num raio de aproximadamente 1,5 e 2,5 Km da planta industrial, respectivamente, Cotegipe (coordenada geográfica 12°47'22"S e 38°25'27"O) e Santa Luzia (coordenada geográfica 12°47'14"S e 38°25'56"O) são duas comunidades com baixo índice socioeconômico. As principais fontes de renda e ocupação dessas comunidades consistem em agricultura de subsistência, produção de derivados da mandioca (principalmente farinha puba) e mariscagem. Essas

comunidades diferem significativamente nos aspectos sociodemográficos e econômicos daqueles verificados para o município de Simões Filho.

Crítérios de inclusão e questões éticas

Com o intuito de estabelecer a quantidade de pessoas que atendiam aos critérios de inclusão e exclusão do projeto, bem como identificá-las e convidá-las a participar da pesquisa, um censo foi realizado entre março e setembro de 2011 em ambas as comunidades. Este censo também foi útil para obter informações acerca do total de pessoas residentes em cada comunidade, distribuição por faixa etária, suas condições de saúde, sanitária, socioeconômica etc.

Foram incluídas todas as pessoas de ambos os sexos (faixa etária de 15 a 55 anos de idade) que residissem em uma das comunidades a pelo menos cinco anos, que não possuíssem diagnóstico de doença neurológica e que não trabalhassem ou tenham trabalhado na indústria no último ano, pois assim foram excluídas as pessoas expostas ocupacionalmente. Todas as pessoas que atendiam aos critérios de inclusão foram esclarecidas quanto aos objetivos e condutas da pesquisa, ao tempo em que foram convidadas a participar da mesma. Os voluntários que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Para os menores de idade, a assinatura do responsável também foi obtida. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira (Registro CEP 021/11; Parecer/Resolução nº 027/2011).

Abordagem das comunidades

A preparação das comunidades foi feita baseando-se no princípio da abordagem participativa. Inicialmente foram feitas visitas para conhecer as localidades e identificar o problema ambiental sofrido pela população. Líderes comunitários e professores das escolas locais foram localizados e palestras foram proferidas para explicar a estas pessoas a gravidade do problema e a proposta da pesquisa que seria desenvolvida. Neste momento, a população também expôs o seu ponto de vista acerca do foco da questão e expuseram outros anseios. Assim, tentamos compreender qual a percepção do risco que as comunidades tinham.

Com base nestas discussões, mobilizamos esforços para a realização de duas Atividades Curriculares em Comunidade (ACC), que são componentes curriculares optativos da Universidade Federal da Bahia, as quais foram conduzidas em

Cotegipe e Santa Luzia. As propostas destas atividades eram levar conhecimento sobre assuntos relacionados à saúde, educação, qualidade de vida, higiene bucal etc., bem como adquirir confiança da população para que a pesquisa pudesse ser conduzida.

Com o intuito de abranger integralmente ambas as comunidades, visitas domiciliares a todas as residências foram realizadas. As pessoas que se enquadravam aos critérios estabelecidos pela pesquisa foram identificadas e explicadas sobre o projeto. As comunicações posteriores com cada voluntário foram realizadas através de contato telefônico ou por intermédio dos líderes comunitários.

Em contrapartida à participação das comunidades, os pesquisadores se comprometeram a fornecer um relatório técnico científico sobre a real situação da população. Laudos com os resultados dos exames laboratoriais de cada voluntário também serão entregues.

Informações sociodemográficas

Um questionário com finalidade de obter informações sobre características sociodemográficas (etnia, nível educacional, tempo de moradia na comunidade etc.), hábitos de vida (tabagismo, etilismo, destino do lixo doméstico etc.) e atividade ocupacional foi aplicado a cada voluntário. Entrevistadores treinados coletaram as informações contidas no questionário de forma individual no momento da assinatura do TCLE ou da coleta do material biológico.

Coleta das amostras biológicas

Foram realizadas coletas de amostras de cabelo, cabelo axilar, unha e saliva seguindo metodologias previamente descritas (MENEZES-FILHO et al, 2009a; OLMEDO et al, 2010; WRIGHT et al, 2006). Devido aos hábitos culturais, estéticos e higiênicos das mulheres brasileiras e visando maior adesão à pesquisa, amostras de cabelo axilar não foram coletadas nos voluntários do sexo feminino.

Para as amostras de cabelo, uma mecha de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro foi obtida da região occipital com auxílio de uma tesoura de aço inoxidável cirúrgico. A mecha foi previamente amarrada com um fio de teflon nas proximidades do couro cabeludo para indicar a região de crescimento recente, já que o primeiro centímetro do cabelo é que foi utilizado para a determinação do manganês. Após secção, a mecha foi colocada em saco plástico de amostragem. As amostras foram

identificadas e mantidas à temperatura ambiente até o momento da análise. Aquelas pessoas que possuíam cabelo de comprimento inferior a 2 cm tiveram uma quantidade suficiente da amostra cortada e aparada diretamente nos sacos de amostragem (MENEZES-FILHO et al, 2009a; WRIGHT et al, 2006).

Quantidade suficiente do cabelo axilar foi coletada de ambas as axilas dos voluntários do sexo masculino com auxílio de uma tesoura cirúrgica (OLMEDO et al, 2010). As amostras foram armazenadas em sacos plásticos estéreis previamente identificados e mantidas em temperatura ambiente até o momento da análise. Como medida de evitar contaminação externa da amostra, os homens foram instruídos a não utilizarem desodorante no dia da coleta.

Para a coleta das unhas, os voluntários foram solicitados a lavarem as mãos com sabonete líquido, enxaguando-as exaustivamente para a remoção de material particulado e da espuma proveniente do detergente. Após terem sido secas, todas as unhas de ambas as mãos foram coletadas com cortador de unhas com reservatório para as arestas. As mulheres que possuíam unhas pintadas tiveram o esmalte removido com auxílio de solução à base de acetona antes da lavagem das mãos (MEHRA; JUNEJA, 2005). Todo o material coletado foi armazenado em sacos plásticos de amostragem previamente identificados e mantidos à temperatura ambiente até o momento da análise.

Para a coleta de saliva, os voluntários receberam água deionizada em quantidade suficiente (aproximadamente 100 mL) para realização de três enxágues bucal por 1 minuto. Imediatamente após o enxágue, aproximadamente 5 mL de saliva não estimulada foi coletada por um período máximo 10 minutos diretamente para tubos graduados de polipropileno com tampa de rosca (Corning®) previamente identificados. As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas com gelo reciclável durante o transporte para o laboratório, onde foram centrifugadas por 10 minutos a aproximadamente 2318 g e o sobrenadante separado em alíquotas e congelado a -20°C até o momento da análise (KIM et al, 2010; OLMEDO et al, 2010; WATANABE et al, 2009).

Instrumentos

Balança analítica (Sartorius® CP2245), banho de ultrassom, chapa de aquecimento e espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (AA 240-Z, Varian Inc.) equipado com corretor de background de Zeeman (GTA 120, Varian

Inc.) e amostrador automático (PSD 120, Varian Inc.) foram utilizados, respectivamente, nos procedimentos de pesagem, lavagem, digestão e determinação quantitativa do metal nas amostras biológicas. Lâmpada monocromática de cátodo oco para manganês foi utilizada como fonte de luz e operada no comprimento de onda 279,5 nm.

Reagentes, soluções e vidrarias

Todos os reagentes utilizados foram de elevado grau de pureza. Ácido nítrico concentrado (HNO₃; JT Baker®) e água pura Tipo I (18,2 MΩ.cm; Milli-Q, Millipore®) foram empregados no processo de digestão das amostras e preparo das soluções padrões. Triton X-100 (Merck®) 1% (m/v) foi utilizado na lavagem das amostras biológicas. Solução padrão uso de manganês (20 µg/L) foi preparada em solução de HNO₃ 0,2% (v/v) a partir da diluição da solução padrão estoque (AccuStandard®, New Haven, USA – 1000 µg/mL). A curva de calibração em modo linear, composta por 6 pontos, foi preparada diariamente no momento da análise após diluição automática da solução padrão uso de manganês pelo amostrador automático do espectrômetro.

Todas as vidrarias e utensílios de plástico utilizados durante a fase pré-analítica e analítica foram previamente lavados em detergente neutro (Extran®, Merck), seguido por desmineralização em HNO₃ 20% (v/v) e enxague repetidos com água pura Tipo I.

Preparação e análise das amostras biológicas

As amostras biológicas foram submetidas a etapas pré-analíticas e, posteriormente, à quantificação do Mn. Cabelo, cabelo axilar e unha foram lavados para descontaminação externa e digeridos antes de terem seus níveis de Mn quantificados.

No procedimento de lavagem, o primeiro centímetro do cabelo e todo o cabelo axilar coletados foram colocados em béqueres de 50 mL e lavados com 10 mL de solução de detergente não iônico (Triton X-100 1% (m/v), Merck®) em banho de ultrassom por 20 minutos. Em seguida, as amostras foram enxaguadas várias vezes com água pura Tipo I para remoção de todo o detergente, transferidas para discos de papel filtro n° 1 (110 mm de diâmetro, Whatman®) devidamente identificados e colocadas em estufa por cerca de 60°C por 3 a 4 horas para secarem.

Aproximadamente 10 mg de cabelo e cabelo axilar lavados e secos foram pesados em béquer de 50 mL e digeridos com 2 mL de ácido nítrico concentrado (JT Baker®) livre de traços de metais por duas horas em chapa de aquecimento entre 90°C e 100°C. Após completa mineralização, as amostras foram transferidas para tubos graduados de polipropileno com tampa de rosca (Corning®) e avolumadas para 10 mL com água pura Tipo I (MENEZES-FILHO et al, 2009a; WRIGHT et al, 2006). Cada bateria de digestão foi acompanhada por um branco de reagente. Material de referência em cabelo (IAEA-085, da Agência Internacional de Energia Atômica) foi mineralizado nas mesmas condições das amostras e utilizado para avaliar cada corrida analítica.

A lavagem e digestão das amostras de unha foram semelhantes aos procedimentos descritos para a lavagem e digestão do cabelo e cabelo axilar. Antes do banho de ultrassom, entretanto, as arestas das unhas foram individualmente enxaguadas com água pura Tipo I para a remoção do material particulado visível (KILE et al, 2007; LAOHAUDOMCHOK et al, 2011; SAMANTA et al, 2004).

Duplicatas das amostras de cabelo, cabelo axilar, unha e do material de referência foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (EAA-FG). O valor médio de manganês obtido dos brancos dos reagentes foi subtraído dos valores quantificados nas amostras e no material de referência. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g Mn/g}$ do material biológico (cabelo, cabelo axilar ou unha).

As amostras de saliva congeladas foram removidas do freezer e deixadas em temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos antes de serem analisadas. Após descongelarem, as amostras foram diluídas na proporção 1:2 com solução de HNO_3 0,2% (v/v) e analisadas em duplicata por EAA-FG. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g Mn/L}$ de saliva. O material de referência em cabelo foi utilizado para verificar a exatidão do método.

A determinação de manganês em todas as amostras biológicas foi realizada pelo método de curva de calibração. As amostras, em duplicata, foram injetadas (10 μL) em um tubo de grafite particionado e submetidas ao programa de temperatura (etapas de secagem, queima e atomização) e aos parâmetros analíticos sugeridos pelo manual do equipamento para determinação de manganês (Tabela 1). As amostras que apresentaram sinais de absorbância que excediam o limite superior da curva de calibração foram diluídas com solução de HNO_3 0,2% (v/v) e novamente

analisadas. Amostras também foram novamente analisadas se a diferença entre as concentrações das duplicatas excedesse 10%.

Tabela 1: Programa de temperatura e parâmetros analíticos utilizados para a determinação de Mn.

Item	Unidade	Valor
Largura da fenda	nm	0,2
Corrente da lâmpada	mA	5
Programa de temperatura		
Secagem		
Temperatura 1 (rampa)	°C (s)	85 (5)
Temperatura 2 (rampa)	°C (s)	95 (40)
Temperatura 3 (rampa)	°C (s)	120 (10)
Queima		
Temperatura	°C	700
Rampa	s	5
Permanência	s	3
Atomização		
Temperatura	°C	2400
Rampa	s	1,1
Permanência	s	2

Análise de dados

Análise estatística descritiva foi empregada para analisar os dados sociodemográficos (através da distribuição de frequência) da população de estudo. As variáveis contínuas obtidas das determinações de Mn nas amostras biológicas (MnC, MnAx, MnUn e MnSal) também foram submetidas à análise descritiva (média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo). Os níveis dos biomarcadores ainda foram estratificados de acordo as covariáveis sociodemográficas.

As distribuições dos dados dos biomarcadores e das variáveis sociodemográficas quantitativas foram avaliadas quanto à normalidade pela aplicação do teste de Kolmogorov-Smirnov (KS). Teste T de Student foi empregado para verificar se houve diferença significativa nos níveis de MnUn entre as comunidades, sexo, faixa etária e as demais características sociodemográficas. Para os demais biomarcadores, o teste U de Mann Whitney foi empregado com o mesmo propósito. O teste de Grubbs foi empregado para detectar 'outliers' nas variáveis contínuas obtidas a partir da determinação de Mn nas amostras.

O teste de Qui quadrado (χ^2) foi utilizado para avaliar as diferenças na frequência entre as variáveis sociodemográficas categóricas de acordo as

comunidades. Coeficiente de correlação de Spearman foi empregado para avaliar as correlações entre as características sociodemográficas contínuas e os níveis de Mn nos diferentes biomarcadores. O nível de significância aceito em todos os testes foi de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SPSS versão 20 para Windows.

RESULTADOS

Através do censo realizado em 2011, foram identificadas 292 e 296 pessoas nas comunidades de Cotegipe e Santa Luzia, respectivamente. Cento e trinta e três pessoas (45,6%) da comunidade de Cotegipe e 152 (51,4%) de Santa Luzia são do sexo masculino. Das pessoas de Cotegipe, 153 (52,4%) atendiam aos critérios de inclusão da pesquisa, sendo 65 do sexo masculino e 88 do sexo feminino. Em Santa Luzia, este total foi de 142 (47,9%), sendo 75 homens e 67 mulheres.

Do total de pessoas de Cotegipe e Santa Luzia que atendiam aos critérios de inclusão da pesquisa, 89 (30,1%) aceitaram participar voluntariamente (42 de Cotegipe e 47 de Santa Luzia). A Tabela 2 apresenta os principais resultados sociodemográficos dos voluntários de acordo a comunidade em que residem.

Tabela 2: Características sociodemográficas dos voluntários de acordo a comunidade.

	Cotegipe		Santa Luzia		χ^2	p-valor
	N	%	N	%		
Gênero	42		47		4,652	0,031
Masculino	6	14,3	16	34,0		
Feminino	36	85,7	31	66,0		
Etnia	41		47		5,299	0,021
Negra	17	41,5	31	66,0		
Pardo	24	58,5	16	34,0		
Renda familiar^a	41		47		1,234	0,267
Até 1	28	68,3	37	78,7		
Acima de 1	13	31,7	10	21,3		
Escolaridade	41		47		7,459	0,006
Fundamental	16	39,0	32	68,1		
Médio	25	61,0	15	31,9		
Queima do lixo doméstico	41		47		0,312	0,576
Sim	19	46,3	19	40,4		
Não	22	53,7	28	59,6		
Fumante ativo/passivo	41		47		10,598	0,001
Sim	8	19,5	25	53,2		
Não	33	80,5	22	46,8		
	Média	DP^b	Média	DP^b	t	p-valor
Idade (anos)	32,9	6,35	34,2	10,82	0,691	0,492
Tempo de exposição (anos)	22,8	9,52	28,1	12,73	2,229	0,028

a: Renda familiar em salários mínimos

b: DP = desvio padrão

Diferenças significativas entre as características sociodemográficas de acordo a comunidade foram verificadas para a maioria das variáveis avaliadas. Apenas renda familiar ($\chi^2=1,234$, $p=0,267$), hábito de queimar lixo doméstico ($\chi^2=0,312$, $p=0,576$) e idade dos voluntários ($T=0,691$, $p=0,492$) não alcançaram diferença significativa entre as comunidades (Tabela 2).

No que concerne à análise laboratorial dos biomarcadores, o método analítico empregado proveu resultados que atendiam aos critérios de qualidade. A exatidão

média obtida com o material de referência em cabelo foi de 97,6% (variando de 89,0% a 111,7%). O limite de detecção (0,1µg/L), por sua vez, foi previamente relatado (MENEZES-FILHO et al, 2009a) e o suficiente para garantir a determinação dos níveis de Mn em todas as amostras.

A análise da distribuição dos dados do MnC e MnSal quanto à normalidade revelou uma distribuição não paramétrica pelo teste KS ($Z=1,658$ e $Z=2,685$; $p<0,05$, respectivamente). Para o MnUn, o referido teste não afastou a hipótese de normalidade ($Z=1,161$; $p=0,135$). Devido ao baixo número amostral disponível para as análises de MnAx ($n=19$), o teste KS não foi empregado, assumindo-se uma distribuição não paramétrica.

Concentrações elevadas e alta variabilidade nos níveis de Mn nas amostras biológicas foram observadas na população de estudo. Os níveis de Mn (média \pm desvio padrão) quantificados nas amostras de cabelo, cabelo axilar, unha e saliva, independente da comunidade, foram $9,2 \pm 9,4$ µg/g, $22,2 \pm 21,0$ µg/g, $6,4 \pm 4,1$ µg/g e $6,3 \pm 10,4$ µg/L, respectivamente. Diferenças estatísticas significativas ($p<0,05$) foram observadas entre os níveis de MnC, MnAx e MnUn entre as comunidades (Santa Luzia > Cotegipe). Embora a mediana dos níveis de Mn na saliva também tenha sido mais elevada nos voluntários de Santa Luzia do que nos de Cotegipe, esta diferença não alcançou significância estatística (MW, $p=0,317$) (Tabela 3). A Tabela 3 apresenta a análise descritiva dos quatro biomarcadores de exposição ao Mn de acordo diversas características sociodemográficas.

Tabela 3: Níveis dos biomarcadores do Mn de acordo com as principais características sociodemográficas. Dados expressos em mediana (min – máx).

	MnC (µg/g)	MnAx (µg/g)	MnUn (µg/g)	MnSal (µg/L)
Comunidade				
Cotegipe	2,7 (0,6-44,6)*	5,8 (3,8-17,2)*	4,0 (0,7-16,1) [#]	3,0 (0,4-43,3)
Santa Luzia	10,5 (0,9-42,0)	21,8 (4,4-85,6)	6,5 (1,1-22,2)	3,7 (0,6-81,6)
Sexo				
Masculino	9,7 (1,3-42,0)	17,2 (3,8-85,6)	7,2 (2,9-22,2)	4,1 (0,6-81,6)
Feminino	4,4 (0,6-44,6)	----	5,3 (0,7-17,0)	3,4 (0,4-43,3)
Faixa Etária^a				
15 a 33	4,5 (1,0-44,6)	7,3 (3,9-37,7)	4,8 (0,7-17,0)	3,5 (0,4-43,3)
34 a 55	7,3 (0,6-42,0)	19,7 (3,8-85,6)	5,8 (1,3-22,2)	3,4 (0,6-81,6)
Renda^b				
Até 1	6,6 (0,6-44,6)	25,8 (5,8-85,6)	5,9 (1,1-22,1)	3,4 (0,4-81,6)
Acima de 1	3,3 (0,8-17,5)	7,4 (3,8-21,9)*	4,4 (0,7-16,1)	3,5 (0,6-13,5)
Escolaridade				
Fundamental	7,8 (0,6-44,6)	23,7 (4,4-85,6)	6,5 (1,1-22,2)	3,7 (0,9-81,6)
Médio	3,3 (0,7-35,6)*	9,0 (3,8-21,9)	4,3 (0,7-16,1) [#]	3,3 (0,4-13,5)
Fumante ativo/passivo				
Sim	7,2 (1,0-28,3)	7,3 (3,8-44,2)	6,1 (1,3-17,0)	3,5 (0,9-81,6)
Não	4,4 (0,6-44,6)	21,6 (3,9-85,6)	5,1 (0,7-22,2)	3,4 (0,4-43,3)
Etilismo				
Sim	7,6 (0,6-42,0)	17,2 (5,8-85,6)	5,3 (1,3-22,2)	3,7 (0,4-81,6)
Não	4,4 (0,7-44,6)	12,8 (3,8-50,8)	5,8 (0,7-16,1)	3,4 (0,6-43,3)
Queima lixo				
Sim	6,6 (0,8-44,6)	21,9 (3,9-85,6)	6,1 (1,3-22,2)	3,1 (0,4-81,6)
Não	4,4 (0,6-35,6)	10,9 (3,8-44,2)	5,4 (0,7-16,1)	3,7 (0,9-20,8)
Tempo de exposição^a				
5 a 26	3,8 (0,6-42,0)	8,7 (3,9-85,6)	4,7 (0,7-22,2)	2,6(0,6-43,3)*
26 a 50	7,8 (0,7-44,6)	18,5 (3,8-50,8)	6,4 (1,3-17,0)	4,6 (0,4-81,6)

a: Faixa etária e tempo de exposição em anos;

b: Renda familiar em salários mínimos;

* Mann Whitney, $p < 0,05$;

[#] Teste T de Student, $p < 0,05$.

As medianas do MnC (9,7 µg/g versus 4,4 µg/g; MW, $p = 0,085$), MnUn (7,2 µg/g versus 5,3 µg/g; teste T, $p = 0,056$) e MnSal (4,1 µg/L versus 3,4 µg/L; MW, $p = 0,302$) foram maiores nos homens do que nas mulheres, respectivamente. Estas

diferenças, todavia, apresentaram significância estatística limítrofe para MnC e MnUn e não foi significativa para MnSal.

Diferenças estatísticas nos níveis dos biomarcadores de acordo as características sociodemográficas foram observadas apenas quando consideradas a renda familiar, escolaridade e tempo de exposição. As medianas do MnC (7,8 µg/g versus 3,3 µg/g; MW, $p=0,010$) e MnUn (6,5 µg/g versus 4,3 µg/g; teste T, $p=0,013$) foram maiores nos voluntários com ensino fundamental do que com ensino médio, respectivamente. A mediana do MnAx (25,8 µg/g versus 7,4 µg/g; MW, $p=0,013$) foi maior nas pessoas que possuem renda familiar de até 1 salário mínimo. Por fim, a mediana do MnSal (2,6 µg/L versus 4,6 µg/L; MW, $p=0,048$) foi maior nos voluntários que residem em uma das comunidades há pelo menos 26 anos, se comparado àqueles que residem entre 5 e 26 anos (Tabela 3).

O teste de Grubbs foi executado nas variáveis contínuas dos biomarcadores e detectou, ao nível de significância de $p<0,05$, um 'outlier' nos dados pertinentes ao MnSal. Este dado foi removido antes da realização das análises de correlação de Spearman.

Análise de correlação de Spearman entre os biomarcadores, independente do local de residência, demonstrou uma moderada correlação linear positiva entre os níveis de MnC e MnUn ($\rho=0,473$; $p<0,001$, $n=76$) e entre MnAx e MnSal ($\rho=0,547$; $p<0,05$, $n=17$). Fortes correlações lineares positivas foram observadas entre MnC e MnAx ($\rho=0,703$; $p<0,01$, $n=18$) e entre MnAx e MnUn ($\rho=0,792$; $p<0,001$, $n=17$), embora o número de amostras envolvidas nessas análises tenha sido reduzido. Por fim, não foram observadas correlações significativas entre os níveis de MnC e MnSal ($\rho=0,200$; $p=0,068$, $n=84$) e MnUn e MnSal ($\rho=0,161$; $p=0,165$, $n=76$) (Figura 2 e Tabela 4).

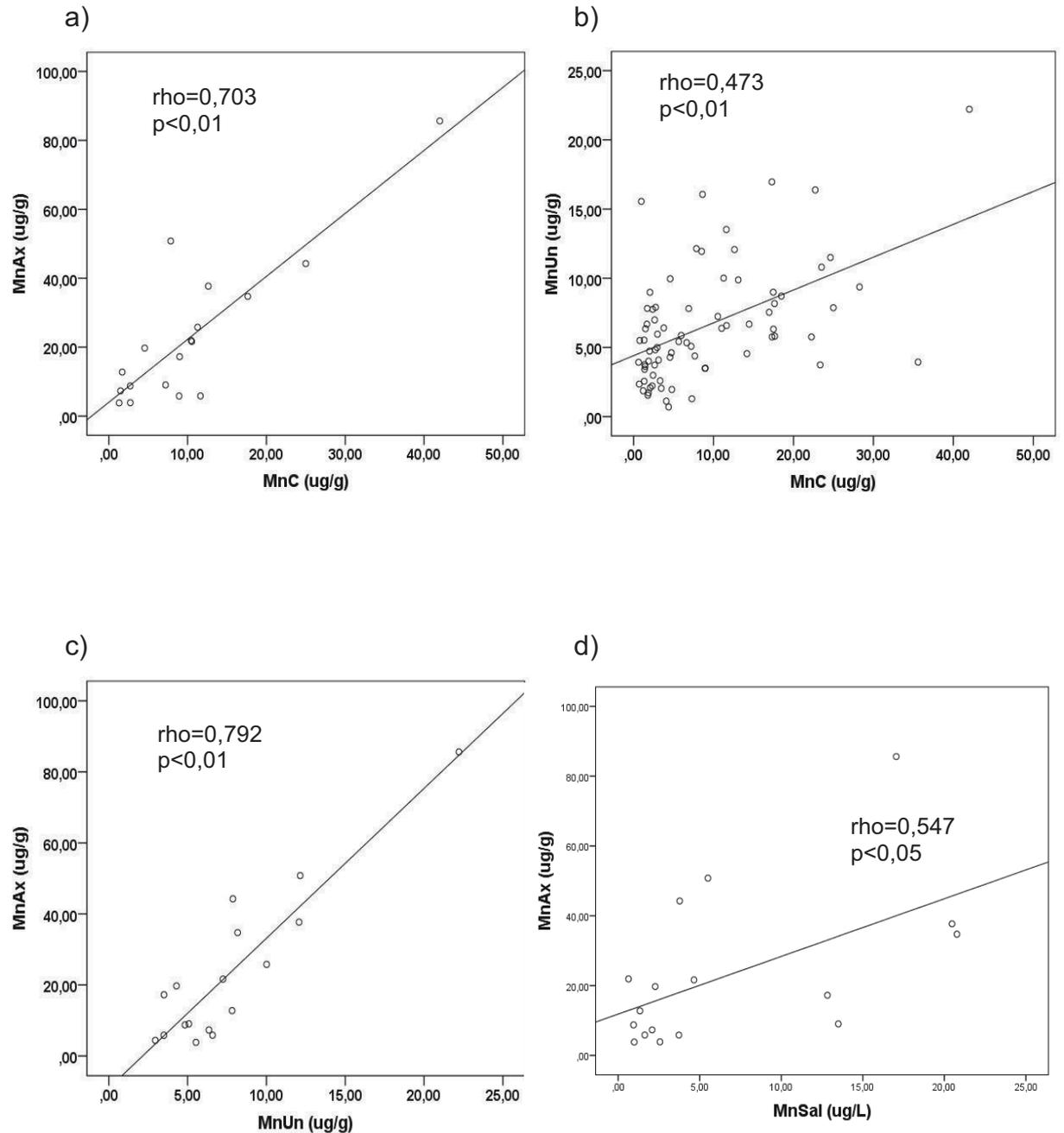


Figura 2: Correlações significantes entre os níveis de MnC e MnAx (a), MnC e MnUn (b), MnUn e MnAx (c) e MnSal e MnAx (d). Coeficiente de correlação de Spearman e nível de significância estão expressos.

Tabela 4: Matriz de correlação de Spearman entre os biomarcadores de exposição ao Mn e características sociodemográficas contínuas.

	MnC (µg/g)	MnAx (µg/g)	MnUn (µg/g)	MnSal (µg/L)	Idade (anos)	Exposição (anos)^a
MnC (µg/g)						
rho	1	0,703**	0,473**	0,200	0,067	0,174
p	-	0,001	0,000	0,068	0,544	0,111
n	85	18	76	84	85	85
MnAx (µg/g)						
rho		1	0,792**	0,547*	0,408	0,194
p		-	0,000	0,023	0,083	0,425
n		19	17	17	19	19
MnUn (µg/g)						
rho			1	0,161	0,101	0,226
p			-	0,165	0,380	0,047*
n			78	76	78	78
MnSal (µg/L)						
rho				1	-0,033	0,164
p				-	0,765	0,133
n				85	85	85
Idade (anos)						
rho					1	0,501**
p					-	0,000
n					89	88
Exposição (anos)^a						
rho						1
p						-
n						88

a: Tempo de exposição (em anos);

*Correlação é significativa com o nível de 0,05 e ** nível de 0,01.

Dentre as características sociodemográficas contínuas (isto é, idade e tempo de exposição do voluntário), o MnUn foi o único biomarcador que se correlacionou significativamente com o tempo de exposição (rho=0,226; p=0,047).

DISCUSSÃO

Os dados obtidos neste trabalho mostram uma ampla dispersão nos níveis de Mn nos indivíduos de ambas as comunidades. Os valores médios de Mn nas amostras biológicas estão superiores aos valores de referência e a outros valores

reportados pela literatura em casos de exposição ambiental e ocupacional. Estes resultados mostram que de fato a população de estudo encontra-se altamente exposta ao Mn, corroborando estudos anteriores realizados na mesma região (MENEZES-FILHO et al, 2009a; MENEZES-FILHO et al, 2011).

Os níveis médios de MnC estão cerca de 8 vezes mais elevados do que o valor de referência para a população adulta brasileira, que é de 0,15 a 1,2 $\mu\text{g/g}$ (MIEKELEY et al, 1998). Resultados semelhantes também foram vistos para os níveis de MnUn, que estão cerca de 4 vezes mais elevados do que a média encontrada em jovens brasileiros ($1,6 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$) de 12 a 18 anos saudáveis e não expostos (CARNEIRO et al, 2011). Embora não seja de nosso conhecimento a existência de valores de referência para MnAx e MnSal, os níveis de Mn em cabelo axilar e saliva estão superiores àqueles descritos para pessoas sob exposição ocupacional (BADER et al, 1999; GIL et al, 2011; WANG et al, 2008). A Tabela 5 apresenta alguns resultados de estudos que utilizaram MnC, MnAx, MnUn e MnSal como biomarcadores para avaliar exposição de adultos ao Mn e confronta seus principais achados com os resultados reportados pelo presente trabalho.

Tabela 5: Valores de Mn (média \pm desvio padrão) determinados em cabelo, cabelo axilar, unha e saliva de adultos no presente estudo e pela literatura científica.

Referência	MnC ($\mu\text{g/g}$)	MnAx ($\mu\text{g/g}$)	MnUn ($\mu\text{g/g}$)	MnSal ($\mu\text{g/L}$)
Presente estudo^a	9,2 \pm 9,4	22,2 \pm 21,0	6,4 \pm 4,1	6,3 \pm 10,4
Bader et al, 1999^b				
Expostos		6,2 \pm 6,2		
Controle		2,2 \pm 1,8		
Nowak e Chmielnicka, 2000^a				
Expostos	1,4 \pm 0,9		13,6 \pm 11,6	
Controle	2,5 \pm 2,2		13,6 \pm 16,0	
Pereira et al, 2004^a				
Localidade MSD	2,6 \pm 1,03			
Localidade CP	2,9 \pm 1,07			
Localidade SC	10,8 \pm 3,41			

a: exposição ambiental; b: exposição ocupacional; c: unha dos pés; d: mediana (mín-máx)

Tabela 5: Valores de Mn (média \pm desvio padrão) determinados em cabelo, cabelo axilar, unha e saliva de adultos no presente estudo e pela literatura científica. (Continuação).

Referência	MnC ($\mu\text{g/g}$)	MnAx ($\mu\text{g/g}$)	MnUn ($\mu\text{g/g}$)	MnSal ($\mu\text{g/L}$)
Mehra e Juneja, 2005^b				
Expostos	9,20 \pm 8,89		\approx 32	
Controle	6,71 \pm 3,38		\approx 13	
Slotnick et al, 2005^{a,c}			0,6 \pm 1,15	
Standridge et al, 2008^a	4,4 \pm 3,3			
Wang et al, 2008^b				
Expostos				4,45 \pm 2,17
Controle				3,04 \pm 1,40
Cowan et al, 2009^b				
Baixa exposição	32,1 \pm 13,6			22,3 \pm 11,3
Alta exposição	37,6 \pm 22,5			31,3 \pm 13,6
Controle	1,51 \pm 2,00			9,98 \pm 6,10
Haynes et al, 2010^a	5,8 \pm 6,42			
Afridi et al, 2011^b				
Expostos	8,86 \pm 0,51			
Controle	4,7 \pm 1,02			
Gil et al, 2011^b		2,35 \pm 4,66		6,9 \pm 10,15
Menezes-Filho et al, 2011^a	3,5 \pm 12,76			
Laohaudomchock et al, 2011^{b,c}			0,80 (0,05 a 10,41) ^d	
Mehra e Thakur, 2012^b				
Expostos	74,4 \pm 49,9			
Controle	31,8 \pm 11,2			

a: exposição ambiental; b: exposição ocupacional; c: unha dos pés; d: mediana (mín-máx)

Como visto na Tabela 5, o MnC é o biomarcador não invasivo mais utilizado para avaliar a exposição ao Mn. De acordo as estratégias de busca (“*manganese AND axillary hair; manganese AND hair; manganese AND nail; manganese AND saliva*”) e as base de dados (Pubmed, Scopus e Science Direct) utilizadas no presente trabalho, foram encontrados apenas dois estudos que utilizaram MnAx como biomarcador de exposição (BADER et al, 1999; GIL et al, 2011) e ambos

foram realizados em trabalhadores expostos. Estudos que utilizaram MnUn e MnSal também foram poucos e alguns ainda diferenciaram do presente trabalho ao utilizar unha dos pés como amostra biológica (LAOHAUDOMCHOCK et al, 2011; SLOTNICK et al, 2005). Essas diferenças dificultam a comparação dos nossos resultados com os da literatura, principalmente devido às diferenças existentes entre exposição ocupacional e ambiental (MERGLER et al, 1999).

Um achado interessante do presente trabalho foi a diferença de exposição existente entre as comunidades. Para três dos quatro biomarcadores utilizados, a comunidade de Santa Luzia apresentou níveis significativamente mais elevados do que os de Cotegipe, embora seja a comunidade relativamente mais distante da eletrossiderúrgica. Segundo Menezes-Filho e colaboradores (2009a), o Mn presente no ar da região próxima à fábrica de ligas ferro-manganês parece ser o principal determinante dos níveis de MnC, sendo as emissões lançadas pelas chaminés da fábrica a principal fonte do Mn atmosférico.

No ano de 2007 os níveis de Mn no ar na região de Cotegipe foram quantificados e variaram de 0,011 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ a 0,439 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (MENEZES-FILHO et al, 2009a). Esses valores estão superiores aos quantificados em regiões de mineração no México (mediana 0,10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) (HERNÁNDEZ-BONILLA et al, 2011; RODRIGUEZ-AGUDELO et al, 2006) e aos valores recomendados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (0,05 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) (US-EPA, 1993). Nos Estados Unidos, a concentração média de Mn no ar é de aproximadamente 0,02 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, mas em locais próximos a fontes industriais tais níveis podem variar de 0,22 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ a 0,3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (ATSDR, 2008).

O material particulado lançado na atmosfera através das chaminés da eletrossiderúrgica, que é composto, sobretudo de óxido de manganês e caracterizado por constituir-se de partículas ultrafinas altamente inaláveis, pode ser carregado pela ação dos ventos por longas distâncias (COSTA, 2008). A comunidade de Santa Luzia localiza-se a aproximadamente 2,5 Km de distância da fábrica, contra 1,5 Km de Cotegipe; todavia, geograficamente, Santa Luzia encontra-se mais ao norte (coordenada geográfica 12°47'14"S e 38°25'56"O) do que Cotegipe (coordenada geográfica 12°47'22"S e 38°25'27"O). De acordo dados coletados pela própria empresa, a direção predominante dos ventos na microárea da eletrossiderúrgica é norte e noroeste (ECMA, 2003 apud VEREDA, 2004), o que nos leva a crer que os maiores níveis de Mn na população de Santa Luzia podem ser

decorrentes do efeito da dispersão atmosférica do material particulado emitido pela indústria. Entretanto, seriam necessários estudos complementares que realizassem a determinação do Mn no ar nas duas comunidades para poder correlacionar a exposição com os biomarcadores. O nosso estudo não realizou este tipo de análise, mas esta limitação poderá ser contornada com a realização de estudos que avaliem os níveis de Mn no ar de ambas as comunidades e de outras regiões do município de Simões Filho.

Análise categorizada dos níveis de Mn de acordo o sexo demonstrou uma tendência para três dos biomarcadores. As medianas do MnC, MnUn e MnSal foram maiores nos homens do que nas mulheres, mas tais diferenças tiveram significância estatística limítrofes, não alcançando o critério estabelecido neste estudo. Esses resultados corroboram os achados de Carneiro e colaboradores (2002), Haynes e colaboradores (2010) e Riojas-Rodríguez e colaboradores (2010), que não observaram diferenças significativas entre os níveis de MnC entre os gêneros. De forma análoga, estudos anteriores não observaram diferenças significativas nos níveis de MnUn (NOWAK; CHMIELNICKA, 2000; SLOTNICK et al, 2005) e MnSal (GIL et al, 2011) entre os sexos.

Diferenças importantes existentes entre o presente estudo e os citados anteriormente, todavia, devem ser consideradas. Pessoas não expostas (CARNEIRO et al, 2002), sob exposição ocupacional (GIL et al, 2011), englobando crianças na análise (CARNEIRO et al, 2002; RIOJAS-RODRÍGUEZ et a, 2010), expostas ambientalmente a fontes de poluição que não sejam fábrica de ligas ferro-manganês (NOWAK; CHMIELNICKA, 2000; RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010; SLOTNICK et al, 2005) e uso do biomarcador Mn nas unhas dos pés (SLOTNICK et al, 2005) são algumas dessas diferenças. Apenas o trabalho de Haynes e colaboradores (2010) possui semelhanças metodológicas com o presente trabalho, mas utiliza apenas o MnC como biomarcador. A comparação dos nossos resultados com os desses estudos é inevitável, já que a literatura é escassa em trabalhos que utilizaram diferentes biomarcadores para avaliar exposição ambiental de adultos a plumas emitidas por fábrica de ligas ferro-manganês.

Análise estratificada dos níveis dos biomarcadores em relação às características sociodemográficas permitiu a identificação de fatores determinantes de alta exposição ao Mn. A renda familiar, escolaridade e tempo de exposição, refletido pelo tempo de moradia do voluntário na região estudada, estiveram

associados com diferenças nos níveis biológicos de Mn, demonstrando que tais variáveis sociodemográficas também podem modular o grau de exposição ao Mn. Esses resultados, todavia, devem ser analisados com cautela, já que diferenças significativas na escolaridade e tempo de exposição foram vistas entre as comunidades. Em Santa Luzia, o tempo médio de exposição foi significativamente maior do que o de Cotegipe. Santa Luzia também foi a comunidade que apresentou os maiores níveis médios de Mn, o que pode estar contribuindo para os resultados observados em relação às contribuições sociodemográficas.

Outro achado importante deste estudo foram as correlações vistas entre os biomarcadores de exposição. Os níveis de MnUn e MnAx correlacionaram positiva e significativamente com os níveis de MnC, um biomarcador bastante utilizado para avaliar exposição ambiental e que tem sido associado com baixo desempenho em testes neuropsicológicos (BOUCHARD et al, 2011; HERNÁNDEZ-BONILLA et al, 2011; LUCCHINI et al, 2012; MENEZES-FILHO et al, 2011; RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010). As correlações entre esses biomarcadores indicam que as pessoas que possuíam maiores níveis de Mn no cabelo também apresentaram níveis elevados de Mn na unha e no cabelo axilar, o que demonstra plausibilidade na origem endógena do Mn presente no cabelo e corrobora sua validade como biomarcador de exposição. Além disso, essas correlações sugerem que o MnUn e MnAx podem ser alternativas ao MnC para se avaliar exposição ambiental. Esses resultados são corroborados por Carneiro de colaboradores (2011), que também observaram correlação entre MnC e MnUn ($\rho=0,193$, $p<0,05$) em jovens não expostos de Porto Alegre, RS.

A correlação entre os níveis de MnC e MnAx foi maior do que a observada entre MnC e MnUn (Tabela 4). O desconforto da coleta do cabelo axilar é ainda menor do que o ocasionado pela coleta do cabelo da região occipital, o que agrega vantagens a esse material biológico como matriz de um biomarcador. Sua utilidade, entretanto, é praticamente limitada aos homens, já que em nossa sociedade as mulheres possuem hábitos de depilar as axilas. O presente trabalho não permite que muitas inferências acerca do MnAx sejam feitas, pois o pequeno número de voluntários do sexo masculino limitou o número de amostras de cabelo axilar. A baixa participação dos homens, entretanto, não é uma realidade apenas deste estudo (STANDRIDGE et al, 2008; TORRENTE et al, 2005). Além dos homens buscarem menos os serviços de saúde do que as mulheres (GOMES et al, 2007),

acreditamos que a baixa participação masculina no presente estudo também se deve ao fato da figura masculina, o principal responsável pela renda familiar nas comunidades de Cotegipe e Santa Luzia, desenvolver suas atividades ocupacionais fora da comunidade, dificultando a adesão.

A saliva é um material biológico altamente atraente em estudos populacionais por ser um material não invasivo, de fácil coleta e que reflete os níveis de metais presentes no sangue, podendo ser uma alternativa a esta amostra (KIN et al, 2010; WANG et al, 2008). Sua composição assemelha-se às dos fluidos extracelulares, mas não é um simples substituto do sangue ou outros fluidos devido aos mecanismos de transporte ativo e à secreção realizados pelas glândulas salivares (KIN et al, 2010; WANG et al, 2008). Por possuir essas características, a saliva já foi utilizada para avaliar exposições ambientais (BARBOSA-JUNIOR et al, 2006) e ocupacionais (COWAN et al, 2009; GIL et al, 2011; WANG et al, 2008) a metais. Wang e colaboradores (2008) demonstraram correlação entre MnSal e Mn no soro ($r=0,574$, $p<0,05$, $n=49$) em pessoas expostas ocupacionalmente. Cowan e colaboradores (2009) corroboram esses resultados e ainda mostram que os níveis de MnSal são praticamente idênticos aos níveis de Mn no plasma no seu grupo de estudo realizado com trabalhadores de fundição.

Como os níveis de manganês na saliva é um reflexo da concentração deste metal no sangue (COWAN et al, 2009; WANG et al, 2008) e a determinação de MnS não tem demonstrado ser um bom biomarcador para se avaliar exposição ambiental ao Mn (ROELS et al, 2012), espera-se pouca utilidade do MnSal em estudos ambientais. De fato, o resultado do presente trabalho corrobora essas expectativas, já que não foi observada correlação significativa entre MnSal e o biomarcador que tem apresentado melhores resultados em estudos com população ambientalmente exposta, ou seja, o MnC.

Os níveis de Mn na saliva correlacionaram-se apenas com o MnAx, diferentemente do que foi observado por Gil e colaboradores (2011). Esses autores não observaram correlação entre MnSal e MnAx no único artigo que até então havia utilizado os dois biomarcadores em conjunto para se avaliar exposição (e neste caso, ocupacional) ao Mn. Cowan e colaboradores (2009) também encontraram resultados diferentes daqueles descrito no presente trabalho, pois correlação positiva e significativa foi observada entre MnSal e MnC em trabalhadores de fundição ($r=0,35$, $p<0,01$).

Três dos quatro biomarcadores (MnC, MnUn e MnAx) utilizados neste trabalho refletem exposição de longo prazo e, ao menos em teoria, podem ser utilizados para avaliar exposição crônica ao manganês. O Mn no cabelo, por exemplo, quando quantificado no primeiro centímetro, reflete uma exposição que ocorreu em média um mês antes da coleta, haja vista a velocidade de crescimento do cabelo ser de aproximadamente 0,35 mm por dia (ou cerca de 1 cm por mês) (TOBIN, 2005). A velocidade de crescimento das unhas, por outro lado, é bem mais lenta (3,47 mm/mês para as unhas das mãos) (YAEMSIRI et al, 2010) e é necessário esperar o seu completo crescimento (que para as unhas das mãos é em média 160 dias – GUPCHUP; ZATZ, 1999) para poder realizar sua coleta e utilizá-la como matriz biológica. Desta forma, espera-se que a determinação de Mn nas unhas das mãos reflita uma exposição que ocorrera aproximadamente 6 meses antes da coleta.

Em nosso estudo, o único biomarcador que se correlacionou com o tempo de exposição dos voluntários foi o MnUn. Acreditamos que, na nossa população de estudo, o tempo de moradia em uma das comunidades seja uma variável capaz de refletir exposição crônica e cumulativa ao Mn, já que a exposição da população é decorrente da emissão de poluentes provenientes da eletrometalúrgica circunvizinha (MENEZES-FILHO et al, 2009a). Dentre os biomarcadores utilizados em nosso estudo, o MnUn é o que reflete exposição de mais longo prazo. Assim, este pode ser um biomarcador útil na avaliação deste tipo de exposição (LAOHAUDOMCHOK et al, 2011).

CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho demonstraram altos níveis de Mn na população de estudo, independente do biomarcador utilizado para se avaliar a exposição. Surpreendentemente, a população de Santa Luzia apresentou níveis mais altos de Mn no organismo do que a população de Cotegipe. Este achado pode ser decorrente da dispersão do material particulado emitido pela fábrica e proporcionado pela direção predominante dos ventos. Todavia, são necessários estudos que avaliem a concentração de Mn no ar em ambas as comunidades para poder corroborar esta hipótese.

Algumas características sociodemográficas pareceram ser fatores determinantes de alta exposição ao Mn, pois análise estratificada demonstraram

níveis mais elevados de Mn em indivíduos de menor escolaridade, nível socioeconômico mais baixo e com maior tempo de exposição crônica, refletido pelo tempo de residência em uma das comunidades.

Correlações positivas e significativas foram observadas entre os biomarcadores de exposição, principalmente entre aqueles que refletem exposição de longo prazo. Os níveis de Mn nas unhas das mãos e em cabelo axilar apresentaram boas correlações com os níveis de Mn no cabelo, o biomarcador mais utilizado e com melhores resultados em estudos de exposição ambiental. Adicionalmente, o MnUn correlacionou-se positivamente com o tempo de moradia em uma das comunidades, uma variável que reflete, em nossa população de estudo, exposição crônica e cumulativa ao Mn. Somado às vantagens e comodidade da coleta, esses resultados sugerem que o MnUn pode dar informações adicionais ao MnC quando se deseja avaliar exposição ambiental ao manganês.

O presente trabalho foi o primeiro a utilizar, em conjunto, quatro biomarcadores não invasivos para avaliar exposição ambiental ao Mn. Mais estudos que utilizem em conjunto esses biomarcadores são necessários para melhor descrever suas correlações, bem como determinar valores de referência para o MnAx.

REFERÊNCIAS

AFRIDI, H. I. et al. Levels of arsenic, cadmium, lead, manganese and zinc in biological samples of paralysed steel mill workers with related to controls. [S.l.], v. 144, n. 1-3, p. 164-182, 2011.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Toxicological profile for manganese.** [S.l.], 2008.

ASCHNER, J. L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. **Molecular Aspects of Medicine**, [S.l.], v. 26, n.4-5, p. 353-362, 2005.

ASCHNER, M. et al. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.l.], v. 221, n. 2, p. 131-147, 2007.

BADER, M. et al. Biomonitoring of manganese in blood, urine and axillary hair following low-dose exposure during the manufacture of dry cell batteries. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, [S.l.], v. 72, n. 8, p. 521-527, 1999.

BARBOSA-JUNIOR, F. et al. Evaluation of the use of salivary lead levels as a surrogate of blood lead or plasma lead levels in lead exposed subjects. **Arch. Toxicol.**, [S.l.], v. 80, n. 10, p. 633-637, 2006.

BOTTA, C. et al. Assessment of occupational exposure to welding fumes by inductively coupled plasma-mass spectroscopy and by the alkaline comet assay. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S.l.], v. 47, n. 4, p. 284-295, 2006.

BOUCHARD, M. et al. Intellectual impairment in school-age children exposed to manganese from drinking water. **Environmental Health Perspectives**, [S.l.], v. 119, n. 1, p. 138-143, 2011.

BRENNEMAN, K. A. et al. Direct olfactory transport of inhaled manganese ($^{54}\text{MnCl}_2$) to the rat brain: toxicokinetic investigations in a unilateral nasal occlusion model. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.l.], v. 169, n. 3, p. 238-248, 2000.

BURTON, N. C.; GUILARTE, T. R. Manganese neurotoxicity: lessons learned from longitudinal studies in nonhuman primates. **Environmental Health Perspective**, [S.l.], v. 117, n. 3, p. 325-332, 2009.

CARNEIRO, M. T. W. D. et al. Intervalos de referência para elementos menores e traço em cabelo humano para a população da cidade do Rio de Janeiro – Brasil. *Química Nova*, [S.l.], v. 25, n. 1, p. 37-45, 2002.

CARNEIRO, M. F. H. Background values for essential and toxic elements in children's nails and correlation with hair levels. **Biol. Trace Elem. Res.**, [S.l.], v. 144, n.1-3, p. 339-350, 2011.

COSTA, D. L. Air pollution. In: KLAASSEN, C. D. (Editor). **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 7.ed. New York: McGraw-Hill, 2008. p. 1119-1156.

COWAN, D. M. et al. Manganese exposure among smelting workers: blood manganese-iron ratio as a novel tool for manganese exposure assessment. **Biomarkers**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 3-16, 2009.

DORMAN, D. C. et al. Tissue manganese concentrations in young male rhesus monkeys following subchronic manganese sulfate inhalation. **Toxicological Sciences**, [S.l.], v. 92, n. 1, p. 201-210, 2006.

FITSANAKIS, V. A. et al. The use of magnetic resonance imaging (MRI) in the study of manganese neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 27, n. 5, p. 798-806, 2006.

GIL, F. et al. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 409, n. 6, p. 1172-1180, 2011.

GOMES, R. et al. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 565-574, 2007.

GUPCHUP, G. V.; ZATZ, J. L. Structural characteristics and permeability properties of the human nail: a review. **J. Cosmet. Sci.**, [S.I.], v. 50, p. 363-385, 1999.

HAYNES, E. N. et al. Environmental manganese exposure in residents living near a ferromanganese refinery in Southeast Ohio: A pilot study. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 31, n. 5, p. 468-474, 2010.

HERNÁNDEZ-BONILLA, D. et al. Environmental exposure to manganese and motor function of children in Mexico. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 32, n. 5, p. 615-621, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Simões Filho – BA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?r=2&codmun=293070>>. Acesso em: 30 mar. 2013.

KILE, M. L. et al. Association between total ingested arsenic and toenail arsenic concentrations. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, [S.I.], v. 42, n. 12, p. 1827-1834, 2007.

KIM, Y. J. et al. Effects of smoking on trace metal levels in saliva. **Oral Diseases**, [S.I.], v. 16, n. 8, p. 823-830, 2010.

LAOHAUDOMCHOK, W. et al. Toenail, blood, and urine as biomarkers of manganese exposure. **J. Occup. Environ. Med.**, [S.I.], v. 53, n. 5, p. 506-510, 2011.

LUCCHINI, R. G. et al. Tremor, olfactory and motor changes in Italian adolescents exposed to historical ferro-manganese emission. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 4, p. 687-696, 2012.

MAGALHÃES, A. A. S. Fundação Crê além da compensação ambiental: um estudo de caso. Salvador, 2007.

MEHRA, R.; JUNEJA, M. Elements in scalp hair and nails indicating metal body burden in polluted environment. **Journal of Scientific & Industrial Research**, [S.I.], v. 64, 2005.

MEHRA, R.; THAKUR, A. S. Relationship between lead, cadmium, zinc, manganese and iron in hair of environmentally exposed subjects. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012. In Press.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. High levels of hair manganese in children living in the vicinity of a ferro-manganese alloy production plant. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 30, n. 6, p. 1207-1213, 2009a.

MENEZES-FILHO, J. A. Níveis elevados de manganês e déficit cognitivo em crianças residentes nas proximidades de uma metalúrgica ferro-manganês na Região Metropolitana de Salvador, Bahia. Rio de Janeiro, 2009c.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. Elevated manganese and cognitive performance in school-aged children and their mothers. **Environmental Research**, [S.I.], v. 111, v. 1, p.156-163, 2011.

MERGLER, D. et al. Nervous system dysfunction among workers with long-term exposure to manganese. **Environmental Research**, [S.I.], v. 64, n. 2, p. 151-180, 1994.

MERGLER, D. Neurotoxic effects of low level exposure to manganese in human populations. **Environmental Research Section A**, [S.I.], v. 80, n. 2, p. 99-102, 1999.

MIEKELEY, N. et al. How reliable are human hair reference intervals for trace elements? **The Science of the Total Environment**, [S.I.], v. 218, n. 1, p. 9-17, 1998.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Manganese. In:___ **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington DC: National Academies Press, 2001. p. 394-419. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10026&page=R1>. Acesso em: 01 dez. 2012.

NOWAK, B.; CHMIELNICKA, F. Relationship of lead and cadmium to essential elements in hair, teeth, and nails of environmentally exposed people. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.I.], v. 46, n. 3, p. 265-274, 2000.

OLMEDO, P. et al. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [S.I.], v. 659, n. 1-2, p. 60-67, 2010.

PEREIRA, R. et al. Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S. Domingos mine, Portugal). **Science of the Total Environment**, [S.I.], v. 327, n. 1-3, p. 81-92, 2004.

RACETTE, B. A. et al. Pathophysiology of manganese-associated neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 881-886, 2012.

RIOJAS-RODRÍGUEZ, H. et al. Intellectual function in Mexican children living in a mining area and environmentally exposed to manganese. **Environmental Health Perspective**, [S.I.], v. 118, n. 10, p. 1465-1470, 2010.

RIVERA-MANCÍA, S. et al. Manganese accumulation in the CNS and associated pathologies. **Biometals**, [S.I.], v. 24, n. 5, p. 811-825, 2011.

ROELS, H. A. et al. Manganese exposure and cognitive deficits: a growing concern for manganese neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 872-880, 2012.

ROTH, J. A. Homeostatic and toxic mechanisms regulating manganese uptake, retention, and elimination. **Biol. Res.**, v. 39, n. 1, p. 45-57, 2006.

SAMANTA, G. et al. Arsenic and other elements in hair, nails, and skin-scales of arsenic victims in West Bengal, India. **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 326, n. 1-3, p. 33-47, 2004.

SARC, M; LUCCHINI, R. Manganese. In: NORDBERG, G. F. et al (Editores). **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed. Elsevier, 2007.

SLOTNICK, M. J. et al. Profiles of trace elements in toenails of Arab-Americans in the Detroit Area, Michigan. **Biological Trace Element Research**, [S.l.], v. 107, n. 2, p. 113-126, 2005.

STANDRIDGE, J. S. et al. Effect of chronic low level manganese exposure on postural balance: A pilot study of residents in southwest Ohio. **J Occup. Environ. Med.**, [S.l.], v. 50, n. 12, p. 1421-1429, 2008.

TOBIN, D. J. The biogenesis and growth of human hair. In: ____ **Hair in toxicology: an important bio-monitor**. [S.l.]: The Royal Society of Chemistry, 2005. p. 3-33.

TORRENTE, M. et al. Metal concentrations in hair and cognitive assessment in an adolescent population. **Biological Trace Element Research**, v. 104, n. 3, p. 215-221, 2005.

US-EPA. Manganese, 1993. Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0373.htm>>. Acesso em: 26 mar. 2013.

VEREDA. Estudo epidemiológico para avaliação de exposição e risco em saúde da comunidade de Cotegipe, Simões Filho – BA, 2004. 61 p.

WANG, D. et al. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. **Toxicology Letters**, [S.l.], v. 176, n. 1, p. 40-47, 2008.

WATANABE, K. et al. Mn and Cu concentrations in mixed saliva of elementary school children in relation to sex, age, and dental caries. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, [S.l.], v. 23, n. 2, p. 93-99, 2009.

WONGWIT, W. et al. Comparison of biological specimens for manganese determination among highly exposed welders. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, [S.l.], v. 35, n. 3, p. 764-769, 2004.

WRIGHT, R. O. et al. Neuropsychological correlates of hair arsenic, manganese, and cadmium levels in school-age children residing near a hazardous waste site. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 27, n. 2, p. 210-216, 2006.

YAEMSIRI, S. et al. Growth rate of human fingernails and toenails in healthy American young adults. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, [S.l.], v. 24, n. 4, p. 420-423, 2010.

ZONI, S. et al. Neuropsychological testing for the assessment of manganese neurotoxicity: a review and a proposal. **American Journal of Industrial Medicine**, [S.I.], v. 50, n. 11, p. 812-830, 2007.

CAPÍTULO 2: Biomarcadores não invasivos de exposição ao manganês e efeitos neuropsicológicos em adultos ambientalmente expostos

INTRODUÇÃO

O manganês (Mn) é um mineral essencial (ASCHNER; ASCHNER, 2005), mas em excesso no organismo pode ocasionar danos no sistema nervoso central (ASCHNER et al, 2007). O acúmulo deste elemento nos gânglios da base e no córtex frontal cerebral (REANEY et al, 2006; RIVERA-MANCÍA et al, 2011; SEN et al, 2011), bem como a sua correlação com baixo desempenho em testes neuropsicológicos (SEN et al, 2011) têm sido demonstrado em animais e humanos.

Evidências mostram que a ação do Mn sobre neurotransmissores pode ocasionar alterações nos mecanismos sinápticos mediados pela dopamina, glutamato e ácido γ -aminobutírico (GABA) (BURTON; GUILARTE, 2009), o que pode desencadear baixo desempenho em testes neuropsicológicos que avaliem funções motoras, cognitivas e comportamentais. Estudos com primatas não humanos expostos ao Mn demonstraram comportamento semelhante à Doença de Parkinson e comprometimento de funções cognitivas e motoras (BURTON; GUILARTE, 2009; SCHNEIDER et al, 2009). Exposições ocupacionais e ambientais ao Mn também têm sido correlacionadas com comprometimento motor (MERGLER et al, 1994; LUCCHINI et al, 2012), baixo desempenho cognitivo (BOUCHARD et al, 2011; MENEZES-FILHO et al, 2011; RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010; WASSERMAN et al, 2006), baixo desempenho acadêmico (KHAN et al, 2012), hiperatividade (BOUCHARD et al, 2007), comportamentos externalizantes (KHAN et al, 2011), efeito negativo sobre a atenção (LAOHAUDOMCHOK et al, 2011) e memória (TORRES-AGUSTÍN et al, 2012) e comprometimento de outras funções neuropsicológicas.

Comunidades localizadas nas proximidades de minas de extração de minério (RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010), de metalúrgicas de produção de ligas metálicas (MENEZES-FILHO et al, 2009a) e próximas de áreas agrícolas pulverizadas com fungicidas como maneb e mancozeb (GEISSEN et al, 2010), entre outras, constituem grupos de risco de exposição ao Mn. Estudos epidemiológicos em comunidades expostas ambientalmente a este metal têm utilizado, com sucesso, o Mn no cabelo e Mn no ar como marcadores biológicos e ambientais de exposição

(MENEZES-FILHO et al, 2009a; RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010; RODRÍGUEZ-AGUDELO et al, 2006). A utilidade de um biomarcador de exposição ao Mn deve ser avaliada por sua capacidade em caracterizar e separar grupos expostos dos não expostos, bem como em prever comprometimento neuropsicológico decorrente da exposição a este metal.

Resultados conflitantes na literatura fazem com que permaneçam lacunas na escolha do biomarcador ideal para se avaliar exposição ao Mn. Manganês sanguíneo e manganês em cabelo têm sido os mais utilizados em estudos ocupacionais e ambientais que avaliam aspectos neuropsicológicos decorrentes da exposição a este metal (MENEZES-FILHO et al, 2009b; ZHENG et al, 2011), embora nem sempre o Mn no sangue demonstre correlações com o desempenho em testes neuropsicológicos (ROELS et al, 2012). Manganês na saliva, no cabelo axilar e na unha, por outro lado, foram utilizados meramente na avaliação da exposição sem que fossem verificadas suas associações com efeitos neuropsicológicos (BADER et al, 1999; COWAN et al, 2009; GIL et al, 2011; LAOHAUDOMCHOK et al, 2011; MEHRA; JUNEJA, 2005; MENEZES et al, 2004; WANG et al, 2008; WONGWIT et al, 2004).

Diante de algumas divergências existentes na literatura, torna-se importante a realização de estudos que utilizem diferentes biomarcadores para avaliar efeitos neuropsicológicos decorrentes da exposição ao Mn. O objetivo deste capítulo, portanto, consiste em avaliar o desempenho neuropsicológico da população adulta exposta ambientalmente ao manganês e em investigar sua associação com os níveis de Mn no organismo, mensurados através de quatro biomarcadores não invasivos de exposição.

MATERIAIS E MÉTODOS

População de estudo

As comunidades de Cotegipe e Santa Luzia, localizadas no município de Simões Filho a aproximadamente 1,5 e 2,5 Km de uma planta de ligas ferro-manganês na região metropolitana de Salvador, Bahia, foram escolhidas para realização do presente trabalho. Ambas as comunidades sofrem influência da poluição atmosférica lançada ao ambiente pela atividade industrial da eletrossiderúrgica.

Adultos de 15 a 55 anos de idade residentes há pelo menos 5 anos em uma das comunidades, sem histórico de doença neurológica e que não trabalhavam ou tenham trabalhado na fábrica no último ano foram convidados a participar da pesquisa. Informações sociodemográficas foram coletadas dos voluntários mediante aplicação de um questionário.

Avaliação da exposição ao manganês

Amostras de cabelo da região occipital, cabelo axilar (apenas para os homens), unha e saliva foram coletadas e utilizadas como biomarcadores de exposição ao Mn. Os detalhes dos procedimentos de coleta e análise das amostras biológicas, bem como os principais resultados obtidos, estão descritos no Capítulo 1.

Avaliação neuropsicológica

A avaliação neuropsicológica dos voluntários foi realizada de forma individualizada em uma sala fechada que foi cedida pelas escolas da própria comunidade. Utilizou-se uma bateria de testes neuropsicológicos que avaliam a inteligência, funções executivas, funções motoras, atenção e memória. Os testes foram aplicados por psicólogos treinados seguindo as instruções preconizadas pelos manuais dos próprios testes. A aplicação da bateria neuropsicológica completa demorou em média 1,5h – 2h para cada voluntário. Os testes empregados foram: 1) Escala de Inteligência Wechsler para Adultos, do inglês *Wechsler Adult Intelligence Scale* (WAIS) na sua terceira versão; 2) Teste de Memória e Aprendizagem de Rey (RAVLT); 3) Grooved PegBoard; 4) Teste de Atenção Visual versão 3 (TAVIS-3) (tarefas 1 e 3); 5) Teste de Trilhas (do inglês, *Trail Making Test*); 6) Cubos de Corsi; e 7) Span de Dígitos (subteste do WAIS). A Tabela 6 sintetiza esses testes de acordo a função neuropsicológica avaliada.

Tabela 6: Testes e variáveis de acordo as funções neuropsicológicas avaliadas.

Função Neuropsicológica Avaliada	Teste Neuropsicológico	Variável Obtida
Inteligência	WAIS-III	QI
Memória	RAVLT	Soma da pontuação
Função motora	Grooved Pegboard	Tempo (s)
Atenção	TAVIS 3	
Atenção Seletiva	Tarefa 1	Tempo de reação (s)
Atenção Sustentada	Tarefa 3	Tempo de reação (s)
Funções Executivas	Teste de Trilhas	
Velocidade de Processamento	Parte A	Tempo (s)
Flexibilidade Cognitiva	Parte B	Tempo (s)
Memória Operacional Visual	Cubos de Corsi	Soma da pontuação
Memória Operacional Verbal	Span de Dígitos	Soma da pontuação

A escala WAIS em sua versão III (WAIS-III) é uma escala de inteligência que foi publicada originalmente em 1997 nos Estados Unidos. É composta por 14 subtestes organizados em dois conjuntos: verbal e executivo. Cada conjunto possui sete subtestes, sendo eles: Vocabulário, Semelhanças, Aritmética, Dígitos, Informação, Compreensão e Sequência de Números e Letras, para o conjunto que avalia o componente verbal, e Completar Figuras, Códigos, Cubos, Raciocínio Matricial, Arranjo de Figuras, Procurar Símbolos e Armar Objetos, para o conjunto que avalia o componente executivo. Cada conjunto gera uma pontuação, o coeficiente de inteligência (QI) Verbal e o QI Executivo, que juntos fornecem o QI Total (NASCIMENTO; FIGUEIREDO, 2002). No presente trabalho, apenas os subtestes Vocabulários e Cubos foram utilizados. Juntos, estes subtestes fornecem o QI estimado total.

O Teste de Aprendizado Auditivo Verbal de Rey (RAVLT) é um teste que avalia a memória de longo prazo do examinando através da utilização de uma lista de palavras (lista A) que é lida cinco vezes consecutivas e solicitadas a serem repetidas, independentemente da ordem, ao fim de cada leitura (COSTA et al, 2004). Uma lista com palavras interferentes (lista B) também é empregada no meio da avaliação. Aproximadamente 20 minutos após a realização dessa bateria, o examinando é solicitado a reconhecer (reconhecimento tardio), dentre diversas

palavras, aquelas que pertenciam à lista A (MALLOY-DINIZ et al, 2007). Cada palavra reconhecida corretamente fornece um ponto, sendo a variável de avaliação da memória obtida através da soma das palavras reconhecidas tardiamente.

O Grooved Pegboard é um teste formado por um tabuleiro que contém furos com ranhuras randomicamente posicionadas que devem ser inseridos, o mais rápido possível, pelas hastes que acompanham o teste. É um teste que avalia a destreza manual e a coordenação motora fina devido à necessidade de rodar a haste antes que esta seja inserida. Este teste fornece, para cada mão (dominante e não dominante), três escores: o tempo necessário para completar o preenchimento de todos os furos do tabuleiro, o número de “quedas” das hastes e o número de hastes preenchidas corretamente. Elevado tempo de execução e presença de erros indicam baixo desempenho (LAFAYETTE INSTRUMENTS, 2002). No presente trabalho, o tempo de execução da tarefa para a mão dominante e mão não dominante foram as variáveis utilizadas.

O TAVIS 3 é um teste computadorizado que avalia três níveis da atenção (seletiva, alternância e sustentada) através de três tarefas distintas. No presente trabalho, foram utilizadas as tarefas 1 e 3. A primeira tarefa avalia a atenção seletiva (capacidade de focar em estímulos relevantes, na presença de estímulo distratores), onde o examinando deve responder seletivamente (apertando o botão do ‘joystick’) a um estímulo alvo frente aos estímulos distratores. A terceira tarefa avalia a atenção sustentada (capacidade de manter a atenção ao longo do tempo) através da resposta rápida a um estímulo que surge na tela. O TAVIS 3 fornece, para cada tarefa, três medidas para avaliar o desempenho do examinando: erros por omissão, tempo médio de reação e erros por ação. (DUCHESNE; MATTOS, 1997). Os tempos médios de reação nas tarefas 1 e 3 foram utilizados, respectivamente, na avaliação da atenção seletiva e sustentada.

O Teste de Trilhas é constituído por duas partes (A e B) que avaliam a velocidade de processamento (tempo para emitir uma resposta específica) e a flexibilidade cognitiva (capacidade de alternar o curso das ações de acordo as exigências), respectivamente. O teste fornece uma pontuação para cada parte, que consiste no tempo (em segundos) necessário para completar a tarefa (MALLOY-DINIZ et al, 2010; SÁNCHEZ-CUBILLO et al, 2009). Na tarefa A, o examinando deve unir os números na sequência correta (1, 2, 3 etc.), enquanto na tarefa B a união deve ser feita entre números e letras (1A, 2B, 3C etc.).

O teste Cubos de Corsi é um instrumento que avalia a memória operacional (responsável pelo arquivamento temporário da informação) visual. Através de uma ferramenta composta por uma base quadrada com nove blocos idênticos, o examinando deve repetir, na forma direta e inversa, sequências de movimentos realizados pelo examinador (PAULA et al, 2010). A pontuação do teste é resultante da quantidade de acertos obtidos na ordem direta e inversa.

O teste Span de Dígitos é composto de duas tarefas independentes. Em ambas, o examinador lê uma sequência de números para o examinando. Na tarefa da ordem direta, o examinando deve repetir as sequências na mesma ordem em que foram lidas, enquanto na tarefa da ordem inversa, deve repetir as sequências na ordem contrária àquela apresentada pelo examinador. O Span de Dígitos é um teste da escala WAIS utilizado para avaliar a memória operacional em sua componente verbal. O desempenho no teste é calculado pela soma dos acertos obtidos na ordem direta e inversa. O resultado foi ponderado pela idade, conforme preconiza o manual do teste.

Análise de dados

Análise estatística descritiva foi empregada para analisar o desempenho dos voluntários nos testes neuropsicológicos. Os resultados foram expressos de acordo a função neuropsicológica avaliada (inteligência, memória, função motora, atenção, funções executivas e memória operacional) e comunidade de estudo. Teste U de Mann Whitney foi empregado para verificar se houve diferenças entre as funções neuropsicológicas de acordo a comunidade. As correlações entre as características sociodemográficas, biomarcadores de exposição ao Mn e o desempenho neuropsicológico foram avaliadas pelo coeficiente de correlação de Spearman.

Análise de regressão linear multivariada (RLM) foi utilizada para verificar a influência dos níveis biológicos de Mn sobre o desempenho nos testes neuropsicológicos, ajustando por possíveis confundidores. Foram selecionadas para inclusão as variáveis que tinham correlação superior a 0,100 com nível de significância de $p < 0,05$ em relação à variável de desfecho. Transformação logarítmica dos níveis dos biomarcadores foi realizada e as novas variáveis foram utilizadas nas análises de regressão. O modelo foi ajustado por variáveis sociodemográficas e a análise de regressão multivariada executada pelo método *backward*. O nível de significância aceito em todos os testes foi de $p < 0,05$. As

análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SPSS versão 20 para Windows.

RESULTADOS

Ampla variabilidade no desempenho de todos os testes neuropsicológicos foi observada na população de estudo, independente da comunidade analisada. De acordo com a comunidade, diferença estatisticamente significativa no desempenho neuropsicológico foi observada apenas para a função cognitiva. A mediana do QI observado em Cotegipe foi maior do que aquele observado em Santa Luzia (91 versus 83, respectivamente; MW, $p=0,004$) (Figura 3). Quanto à memória, o desempenho mediano dos voluntários de Santa Luzia foi maior do que os de Cotegipe, apresentando significância estatística limítrofe (14 versus 12, respectivamente; MW, $p=0,051$). A Tabela 7 traz a análise descritiva do desempenho neuropsicológico, organizada por função neuropsicológica e comunidade de estudo.

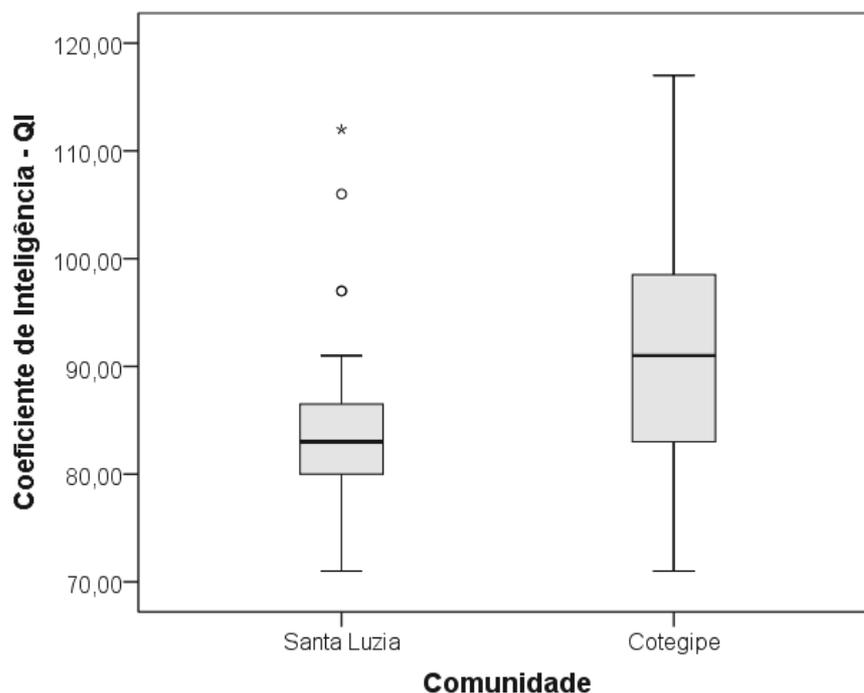


Figura 3: Boxplot da distribuição do coeficiente de inteligência de acordo com local de residência.

Tabela 7: Desempenho nos testes neuropsicológicos de acordo a função e comunidade de estudo.

Função Neuropsicológica	Cotegipe				Santa Luzia				p
	n	Med ^e	Min	Máx	n	Med ^e	Min	Máx	
Inteligência									
QI	39	91*	71	117	43	83	71	112	0,004
Memória	39	12	7	15	45	14	7	15	0,051
Motora (s)									
MD ^a	39	79	51	182	45	78	57	237	0,560
MND ^b	39	85	58	341	45	85	59	377	0,384
Atenção (s)									
Seletiva	38	0,471	0,281	0,536	44	0,471	0,340	0,609	0,593
Sustentada	38	0,498	0,345	1,420	44	0,454	0,322	1,256	0,127
Funções Executivas (s)									
V.P. ^c	37	46	21	113	44	55,5	22	368	0,100
F.C. ^d	37	138	44	362	40	132	53	362	0,415
Memória Operacional									
Visual	39	12	3	19	45	11	1	18	0,074
Verbal	39	9	3	13	45	8	4	16	0,779

a: mão dominante; b: mão não dominante; c: velocidade de processamento; d: flexibilidade cognitiva; e: mediana; * diferença estatística ao nível de significância de $p < 0,05$.

Não foi observada diferença significativa entre homens e mulheres, exceto nos testes que avaliam a memória e memória operacional verbal. O desempenho mediano no teste RAVLT foi significativamente maior entre as mulheres quando comparado aos homens (14 versus 12, respectivamente; MW, $p=0,010$). Para a memória operacional verbal, por outro lado, o desempenho mediano foi melhor entre os homens (10 versus 8, respectivamente; MW, $p=0,043$).

Correlações significativas entre as variáveis sociodemográficas e os desempenhos nos testes neuropsicológicos, independente da comunidade, foram observadas através da análise de correlação de Spearman. A idade do voluntário correlacionou-se positivamente com o desempenho nos testes de função motora ($\rho=0,301$ e $\rho=0,346$; $p < 0,01$, $n=84$, para a mão dominante e mão não dominante, respectivamente) e velocidade de processamento ($\rho=0,274$; $p=0,013$, $n=81$). A renda familiar correlacionou-se positivamente com o QI ($\rho=0,382$; $p < 0,001$, $n=81$),

memória operacional verbal ($\rho=0,223$; $p=0,042$, $n=83$) e memória operacional visual ($\rho=0,318$; $p=0,003$, $n=83$), e negativamente com o desempenho motor ($\rho=-0,377$ e $\rho=-0,365$; $p<0,01$, $n=83$, para a mão dominante e mão não dominante, respectivamente) e velocidade de processamento ($\rho=-0,266$; $p=0,017$, $n=80$).

O perfil de correlação apresentado pela escolaridade e as funções neuropsicológicas corrobora aquele observado para a renda familiar, uma vez que estas variáveis são reconhecidamente colineares. Correlações positivas moderadas foram observadas entre a escolaridade e o QI ($\rho=0,560$; $p<0,001$, $n=81$), memória operacional verbal ($\rho=0,253$; $p=0,021$, $n=83$) e memória operacional visual ($\rho=0,518$; $p<0,001$, $n=83$), enquanto correlações negativas foram vistas com a função motora ($\rho=-0,321$ e $\rho=-0,274$; $p<0,05$, $n=83$, para a mão dominante e mão não dominante, respectivamente), velocidade de processamento ($\rho=-0,442$; $p<0,001$, $n=80$) e flexibilidade cognitiva ($\rho=-0,393$; $p<0,001$, $n=76$).

Análise de correlação bivariada de Spearman entre os biomarcadores de exposição ao Mn e os desempenhos nos testes neuropsicológicos demonstrou associações significativas entre MnC, MnAx e MnUn com diversos testes. Apenas o MnSal não apresentou nenhuma correlação significativa com as diversas funções neuropsicológicas. A Tabela 8 apresenta a matriz de correlação de Spearman entre os biomarcadores e as funções neuropsicológicas, destacando aquelas estatisticamente significativas.

Tabela 8: Matriz de correlação de Spearman entre os biomarcadores de exposição ao Mn e os escores no diversos testes de avaliação das funções neuropsicológicas.

	MnC (µg/g)	MnAx (µg/g)	MnUn (µg/g)	MnSal (µg/L)
Cognição (QI)				
rho	-0,349**	-0,495*	-0,193	-0,113
p	0,002	0,043	0,104	0,320
n	79	17	72	80
Memória				
rho	0,159	0,068	-0,029	0,012
p	0,156	0,788	0,805	0,912
n	81	18	73	82
Função Motora MD^a				
rho	0,223*	0,530*	0,231*	0,125
p	0,045	0,024	0,050	0,264
n	81	18	73	82
Função Motora MND^b				
rho	0,127	0,618**	0,100	0,087
p	0,259	0,006	0,398	0,437
n	81	18	73	82
Atenção Seletiva				
rho	-0,147	-0,280	-0,008	0,069
p	0,195	0,261	0,949	0,544
n	79	18	71	80
Atenção Sustentada				
rho	-0,122	0,047	-0,114	-0,026
p	0,286	0,855	0,344	0,820
n	79	18	71	80
Velocidade processamento				
rho	0,130	0,697**	0,205	0,125
p	0,258	0,002	0,087	0,274
n	78	17	71	79
Flexibilidade Cognitiva				
rho	0,065	0,479	0,328*	0,057
p	0,580	0,071	0,007	0,627
n	74	15	67	75
M.O^c. Visual				
rho	-0,251*	-0,717**	-0,303**	-0,135
p	0,024	0,001	0,009	0,226
n	81	18	73	82
M.O^c. Verbal				
rho	-0,155	-0,523*	-0,112	-0,137
p	0,167	0,026	0,346	0,220
n	81	18	73	82

a: mão dominante; b: mão não dominante; c: memória operacional; correlação significativa ao nível de *0,05 e **0,01.

Análise de regressão multivariada foi realizada para verificar a associação dos níveis dos biomarcadores de exposição ao Mn com o baixo desempenho nos testes

que avaliam as funções neuropsicológicas (QI, função motora, memória operacional, atenção, funções executivas e memória). As covariáveis que apresentaram, através da análise de correlação de Spearman, associação significativa com algum desempenho neuropsicológico (nomeadamente a escolaridade, sexo e comunidade), foram incluídas como variáveis independentes nos modelos de regressão. A renda familiar apresentou moderada correlação significativa com a escolaridade ($\rho=0,438$; $p<0,001$, $n=88$) e, para não superestimar o modelo, não foi incluída como covariável, já que apresenta colinearidade com escolaridade.

Devido ao pequeno número de indivíduos que cederam amostras de cabelo axilar, o MnAx não foi testado nas análises de regressão multivariada. O log da concentração do MnSal, por sua vez, não satisfaz aos critérios estabelecidos para inclusão na análise de regressão ($r>0,100$ e $p<0,05$) e, por isso, não foi usado como variável preditora. Os logaritmos dos demais biomarcadores de exposição (log da concentração do MnC e log da concentração do MnUn) foram testados como variáveis independentes para todos os desfechos avaliados neste estudo, contudo somente nos casos em que os critérios de análise por RLM foram satisfatórios ($r>0,100$ e $p<0,05$), os modelos foram aqui apresentados mesmo que ao final não fosse observado papel preditor de um biomarcador sobre o desfecho (Tabela 9 e Tabela 10). Três voluntários não possuíam dados completos acerca do MnC, tendo os valores desta variável sido imputados pelo valor da mediana de acordo a comunidade antes da análise multivariada.

As Tabelas 9 e 10 resumizam os dados da modelagem para função cognitiva, memória operacional visual, função motora (mão dominante) e flexibilidade cognitiva, que foram as funções neuropsicológicas com correlação significativa na análise de correlação de Spearman. Apenas três modelos de regressão identificaram um biomarcador de exposição ao Mn significativamente associado com um dos desfechos investigados. São apresentados somente os coeficientes Betas não padronizados com seus respectivos intervalos de confiança 95% (IC95%).

O log da concentração do Mn no cabelo apresentou associação inversa e significativa apenas com o QI estimado ($r^2=0,346$; $F=10,073$, $p<0,001$) (Tabela 9). O log da concentração do MnUn, por sua vez, apresentou igualmente uma associação inversa com o desempenho no teste que avalia a memória operacional visual ($r^2=0,274$; $F=8,674$, $p<0,001$) e associação direta e significativa com o desempenho

no teste que avalia a flexibilidade cognitiva, ou seja com o tempo de execução em segundos ($r^2=0,217$; $F=8,860$, $p<0,001$) (Tabela 10).

Tabela 9: Resumo dos modelos de regressão linear multivariada tendo o Log MnC como preditor para o desempenho intelectual ($n=81$), memória operacional visual ($n=83$) e função motora ($n=83$).

	Coefficientes (β) não padronizados	IC 95%
QI estimado		
Intercepto Y	82,815	71,107 a 94,524
Sexo ^a	-4,832	-9,232 a -0,433
Comunidade ^b	3,832	-0,299 a 7,964
Escolaridade ^c	7,646	3,658 a 11,633
Log MnC	-4,763	-9,171 a -0,355
Memória Operacional Visual		
Intercepto Y	8,983	5,556 a 12,410
Sexo ^a	-1,586	-3,201 a 0,028
Escolaridade ^c	3,437	2,024 a 4,849
Função Motora (M.D.)		
Intercepto Y	114,306	94,975 a 133,636
Escolaridade ^c	-17,545	-30,189 a -4,901

a: masculino=1 e feminino=2; b: Santa Luzia=1 e Cotegipe=2; c: Ensino fundamental=1 e Ensino médio=2; M.D. = mão dominante.

Tabela 10: Resumo dos modelos de regressão linear multivariada tendo o Log MnUn como preditor para a memória operacional visual ($n=73$), função motora ($n=73$) e flexibilidade cognitiva ($n=67$).

	Coefficientes (β) não padronizados	IC 95%
Memória Operacional Visual		
Intercepto Y	13,335	8,442 a 18,227
Sexo ^a	-2,182	-4,001 a -0,363
Escolaridade ^b	2,930	1,343 a 4,517
Log MnUn	-3,333	-6,148 a -0,519
Função Motora (M.D.)		
Intercepto Y	112,929	92,178 a 133,681
Escolaridade ^b	-17,239	-31,000 a -3,478
Flexibilidade Cognitiva		
Intercepto Y	172,599	102,527 a 242,672
Escolaridade ^b	-46,634	-78,232 a -15,036
Log MnUn	56,293	2,405 a 110,182

a: masculino=1 e feminino=2; b: Ensino fundamental=1 e Ensino médio=2; M.D. = mão dominante.

Para os três modelos em que um biomarcador foi capaz de prever significativamente um dado desfecho, os resíduos apresentaram distribuição normal (Figura 4). Os gráficos de dispersão dos valores preditos padronizados contra os resíduos padronizados aderiram aos pressupostos de linearidade e homocedasticidade, pois distribuição aleatória do resíduo em torno do zero foi observada e não apresentavam tendência ao longo do eixo da abscissa. Os diagramas parciais da regressão mostram uma relação inversa entre o log da concentração do MnC e o log da concentração do MnUn com o QI e o desempenho no teste que avalia a memória operacional visual, explicando 5,7% e 7,5% da variância, respectivamente. Para a flexibilidade cognitiva, o diagrama parcial da regressão mostra uma relação direta entre o log da concentração do MnUn e o tempo de execução da tarefa que avalia esta função neuropsicológica, nesse caso o log da concentração do MnUn explica 6,4% da variância do tempo de execução da tarefa (Figura 5).

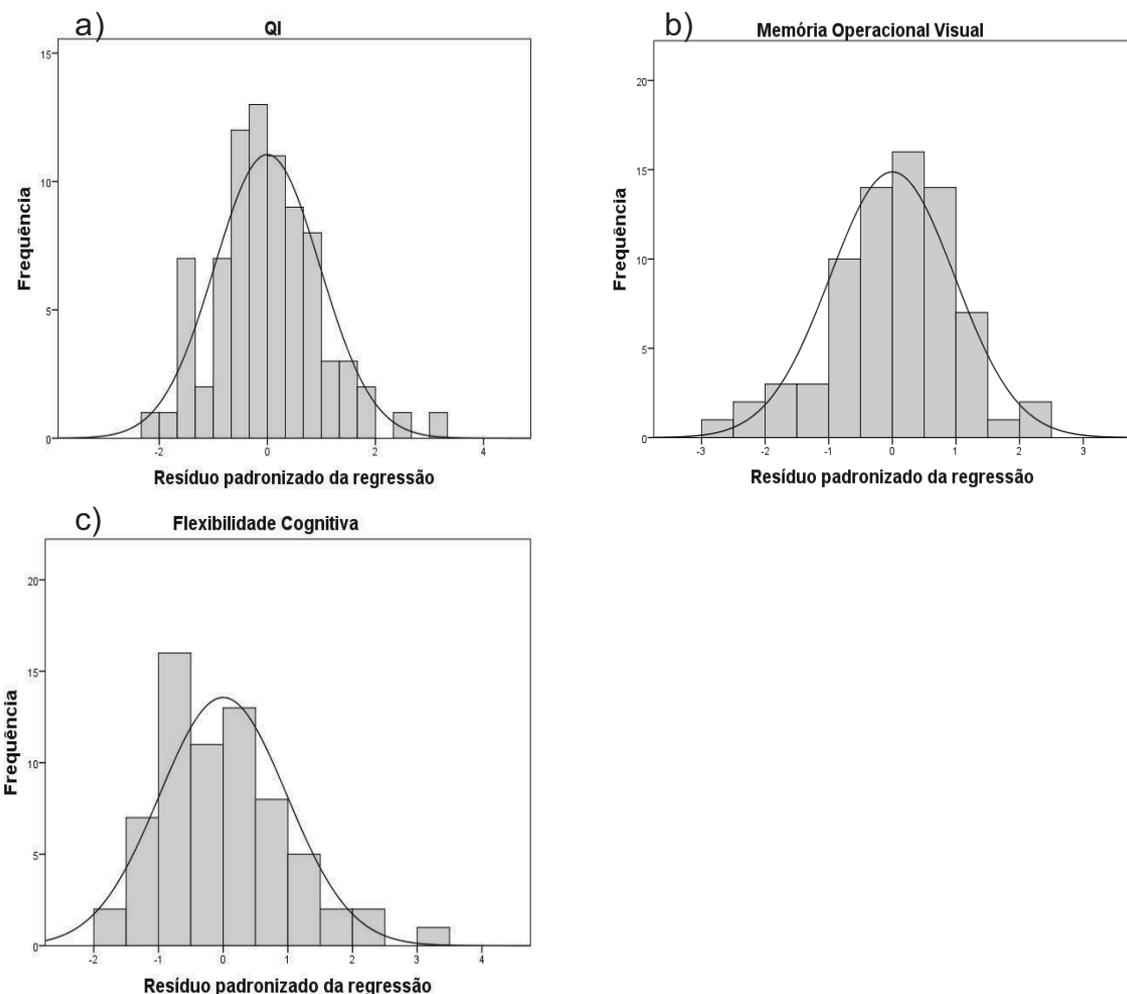


Figura 4: Histograma da distribuição dos resíduos dos modelos multivariados para desempenho intelectual (a), memória operacional visual (b) e flexibilidade cognitiva (c).

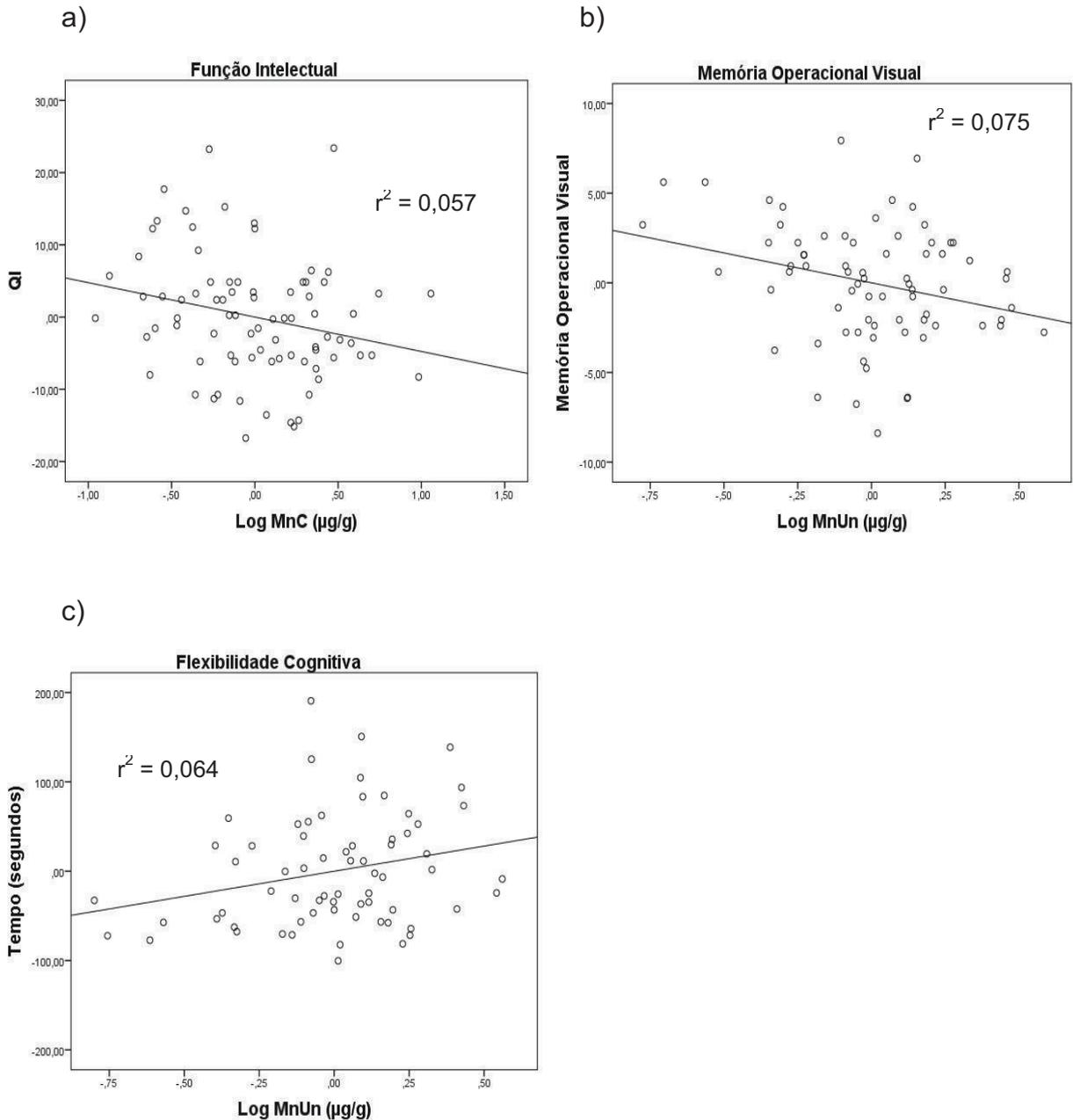


Figura 5: Diagramas parciais entre os resíduos dos biomarcadores contra os resíduos do QI (a), memória operacional visual (b) e flexibilidade cognitiva (c) e seus respectivos coeficientes de determinação (r^2).

DISCUSSÃO

O principal achado deste estudo foram as associações observadas entre a exposição excessiva ao Mn, medida através dos biomarcadores Mn no cabelo e nas unhas e o comprometimento de funções neuropsicológicas que envolvem atividade intelectual, memória operacional e flexibilidade cognitiva de adultos residentes em comunidades próximas a uma eletrossiderúrgica de ligas ferro-manganês.

A função intelectual (QI estimado) foi avaliada através da escala WAIS-III e a memória operacional verbal através do Span de Dígitos, sendo os desempenhos medianos observados na população do estudo semelhantes aos valores de referência validados no Brasil. Para outros testes ('Grooved Pegboard' e Teste de Trilhas), os desempenhos da população não puderam ser comparados ao desempenho médio da população brasileira por não serem padronizados em nosso país. Nestes casos, as comparações foram realizadas com as normas de outros países e com outros estudos que utilizaram a mesma ferramenta na avaliação de pessoas expostas ao manganês. O TAVIS 3, que mede a atenção, embora seja um teste nacional, teve sua validação realizada apenas para crianças e adolescentes entre 8 e 17 anos (DUCHESNE; MATTOS, 1997). O teste de Cubos de Corsi, que avalia a memória operacional visual, também não possui validação brasileira e esta é a primeira vez em que ambos os testes foram utilizados para avaliar a atenção e memória operacional visual em pessoas expostas ao Mn, o que impossibilita a comparação dos nossos resultados.

Foi observada diferença significativa na função intelectual entre as comunidades de estudo. O QI mediano dos voluntários de Cotegipe foi estatisticamente superior àquele observado na comunidade de Santa Luzia (91 versus 83, respectivamente; MW, $p=0,004$). Esta diferença permite classificar o desempenho das comunidades em categorias distintas segundo a classificação de Wechsler (2004). De acordo esta classificação, o coeficiente de inteligência medido através do WAIS-III pode ser agrupado da seguinte forma: >129 – QI muito superior; 120-129 – QI superior; 110-119 – QI médio superior; 90-109 – QI médio; 80-89 – QI médio inferior; 70-79 – QI limítrofe; ≤ 69 – QI intelectualmente deficiente. Assim, o QI estimado para os voluntários de Cotegipe pode ser classificado como médio, enquanto o de Santa Luzia, médio inferior.

O desempenho dos voluntários de Cotegipe no teste que avalia a memória foi inferior àquele validado para a população brasileira de mesma faixa etária. Em Santa Luzia, o desempenho foi semelhante ao da população saudável (Tabela 11), mas a diferença entre as comunidades não foi significativa. Magalhães e Hamdan (2010) avaliaram 302 adultos saudáveis e estabeleceram, para a população brasileira, o desempenho médio no teste RAVLT de acordo a faixa etária. O escore médio, independente do sexo, para adultos de 17 a 34 anos foi 14,3. Para a função motora e funções executivas, os desempenhos dos voluntários do presente estudo foram

inferiores aos valores de referência internacionais para a mesma faixa etária. Quanto à memória operacional verbal, o escore médio obtido em ambas as comunidades enquadra-se na classificação média de acordo Wechsler (2004), que é de 10 ± 3 (Tabela 11).

Tabela 11: Desempenho neuropsicológico e valores validados para adultos de acordo o teste.

Teste	Presente Estudo		Literatura		
	Cotegipe Mediana	Santa Luzia Mediana	Média	DP ^a	Referência
WAIS-III	91	83	100	10	Wechsler, 2004
RAVLT	12	14	14,3	1,1	Magalhães e Hamdan, 2010
Grooved Pegboard (s)					
M.D. ^b	79	78	62,9	8,40	Lafayette
M.N.D. ^c	85	85	67,1	12,20	Instruments, 2002
TAVIS 3 (s)					
Tarefa 1	0,471	0,471	---	---	---
Tarefa 3	0,498	0,454	---	---	---
Teste de Trilhas (s)					
Parte A	46	55,5	23	---	Strauss et al, 2006
Parte B	138	132	50	---	
Cubos de Corsi	12	11	---	---	---
Span de Dígitos	9	8	10	3	Wechsler, 2004

a: desvio padrão; b: mão dominante; c: mão não dominante.

Desempenhos nas funções motoras, executivas, intelectual, memória e memória operacional em pessoas expostas ao Mn já foram descritos na literatura (vide Tabela 12). De modo geral, os resultados obtidos no presente estudo demonstram que nossa população apresentou menor QI e desempenhos mais baixos nos testes ‘Grooved Pegboard’ e Teste de Trilhas, se comparados aos relatos prévios de exposição ao Mn. Quanto à memória operacional verbal, o desempenho foi semelhante àqueles já descritos.

Tabela 12: Desempenho de trabalhadores expostos ao Mn em alguns testes neuropsicológicos.

Referência	Média	DP^c
Bast-Pettersen et al, 2004		
Grooved Pegboard (s)		
M.D. ^a	69,7	11,2
M.N.D. ^b	76,4	12,3
Teste de Trilhas (s)		
Parte A	32,6	11,5
Parte B	85,7	36,6
Bowler et al, 2006		
Span de Dígitos	8,22	2,52
Bowler et al, 2007		
Span de Dígitos	8,44	2,37
QI	95,26	12,93
Ellingsen et al, 2008		
Grooved Pegboard (s)		
M.D. ^a	63,7	---
M.N.D. ^b	66,8	---
Sen et al, 2011		
Grooved Pegboard (s)		
M.D. ^a	76,1	10
M.N.D. ^b	87,0	11
Teste de Trilhas (s)		
Parte A	21,3	7
Parte B	56,7	22
Wastensson et al, 2012		
Grooved Pegboard (s)		
M.D. ^a	85,9	16,5
M.N.D. ^b	95,3	20,8

a: mão dominante; b: mão não dominante; c: desvio padrão

As comparações dos desempenhos neuropsicológicos obtidos na população das comunidades de Cotegipe e Santa Luzia com os testes validados e os apresentados em outros trabalhos com pessoas expostas ao Mn devem ser feitas com cautela, mesmo para os testes com validação nacional. As comunidades de Cotegipe e Santa Luzia são tipicamente de baixo nível socioeconômico e é sabido que esta e outras variáveis demográficas (como diversidade cultural e escolaridade) podem contribuir significativamente para o desempenho em testes neuropsicológicos (MÄDER-JOQUIM, 2010). As correlações observadas no presente trabalho entre as variáveis sociodemográficas e os desempenhos nos testes neuropsicológicos são corroborados por esta afirmação. Os desempenhos nas funções cognitivas (inteligência, memória operacional e funções executivas) estão correlacionados com a renda familiar e a escolaridade. O desenvolvimento dessas funções é dependente

de estímulos educacionais e, no Brasil, a questão educacional está associada às questões econômicas e sociais (MÄDER-JOQUIM, 2010), o que demonstra plausibilidade nos nossos achados.

Assim como os aspectos sociodemográficos, a exposição excessiva ao Mn compromete significativamente diversas funções neuropsicológicas. Diversos autores têm observado associações entre os níveis elevados dos biomarcadores de exposição ao Mn e o desempenho em testes neuropsicológicos (BOUCHARD et al, 2007; BOUCHARD et al, 2011; LUCCHINI et al, 2012; MENEZES-FILHO et al, 2011; MYERS et al, 2003; RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010; TORRES-AGUSTÍN et al, 2012), o que não foi diferente em nosso estudo, pois observamos correlações significativas entre os níveis de MnC e o desempenho nos testes que avaliam a função intelectual, memória operacional visual e função motora. Na comunidade de Cotegipe, um trabalho prévio do nosso grupo também demonstrou uma correlação negativa entre o log da concentração do Mn no cabelo e o desempenho cognitivo de mulheres medido através da Matriz Progressiva de Raven (MENEZES-FILHO et al, 2011), corroborando nossos resultados.

Comprometimento das funções motoras decorrentes da exposição ao Mn tem sido amplamente descrito na literatura. Nos últimos anos, alguns trabalhos demonstraram déficit motor em pessoas expostas ambientalmente ao Mn (HERNADÉZ-BONILLA et al, 2011; KIM et al, 2011; LUCCHINI et al, 2012; RODRÍGUEZ-AGUDELO et al, 2006), mas apenas um pequeno número de estudos utilizou o 'Grooved Pegboard' com este propósito (BAST-PATTERSEN et al, 2004; BOWLER et al, 2006; BOWLER et al, 2007; ELLINGSEN et al, 2008; HERNÁNDEZ-BONILLA et al, 2011; SEN et al, 2011; WASTENSSON et al, 2012). Dentre estes estudos, Hernández-Bonilla e colaboradores (2011) foram os únicos a avaliar o desempenho motor, através do 'Grooved Pegboard', em exposição ambiental ao Mn. Análise de regressão multivariada, entretanto, não demonstrou associação entre os níveis biológicos de Mn e o desempenho de crianças mexicanas neste teste. Sen e colaboradores (2011) e Wastensson e colaboradores (2012) demonstraram menor desempenho no 'Grooved Pegboard' nas pessoas expostas ocupacionalmente, se comparado aos respectivos grupos de referência. Todavia, esses autores não utilizaram um biomarcador de exposição em seus trabalhos. O presente estudo foi o primeiro a demonstrar, para população adulta exposta ambientalmente ao Mn, correlação positiva e significativa entre os níveis biológicos de Mn e o tempo de

execução da tarefa do 'Grooved Pegboard'. Após a análise de regressão multivariada, entretanto, não foi verificada influência dos níveis biológicos de Mn no comprometimento motor na população estudada quando ajustada pelos confundidores.

Outras correlações significativas também foram observadas entre os níveis de Mn no cabelo axilar e na unha com o desempenho nos testes neuropsicológicos. O MnSal, por sua vez, não apresentou nenhuma correlação com o desempenho nos testes empregados no presente trabalho. Os níveis de Mn na saliva indicam exposição recente e é um reflexo da concentração sanguínea deste metal (COWAN et al, 2009; WANG et al, 2008). Como os níveis de manganês no sangue têm sido muito pouco associados aos desfechos neuropsicológicos avaliados em estudos epidemiológicos, era de se esperar pouca utilidade do MnSal para este propósito, o que de fato ocorreu. A comparação desses resultados frente àqueles descritos na literatura é limitada se considerarmos a escassez de trabalhos que utilizaram amostras de cabelo axilar, unha e saliva para avaliar a exposição ao Mn. Além disso, não é de nosso conhecimento a existência de estudos que correlacionem os níveis de MnAx, MnUn e MnSal com o desempenho em testes neuropsicológicos.

A análise de regressão multivariada demonstrou, para a população estudada, que existe uma associação entre os níveis biológicos de Mn e o desempenho neuropsicológico. Observamos que os níveis de Mn medidos no cabelo estavam inversamente associados ao QI (Tabela 9 e Figura 5), enquanto os níveis de Mn avaliados através da unha estavam associados com o baixo desempenho na função de memória operacional visual e flexibilidade cognitiva (Tabela 10 e Figura 5). Os modelos multivariados explicam apenas um pequeno percentual da variação do QI (34,6%), memória operacional visual (27,4%) e flexibilidade cognitiva (21,7%), demonstrando que existem outros fatores importantes que explicam a variação de desempenho nos testes neuropsicológicos. Apesar de esses modelos explicarem um percentual relativamente pequeno da variância dos seus respectivos desfechos, a contribuição específica de cada biomarcador neste contexto multivariado pode ser considerada boa. Embora numericamente as explicações dos biomarcadores, independente do sexo, escolaridade e local de residência, sobre os desfechos aparentem ser pequenas, as mesmas são altamente significativas. Para o modelo que avaliou a função cognitiva como variável dependente, o log da concentração do MnC explica 5,7% da variação do QI estimado. Para a memória operacional visual e

flexibilidade cognitiva, o log da concentração do MnUn explica, respectivamente, 7,5% e 6,4% desta variação. Estudos anteriores corroboram nossos achados ao verificarem associações negativas entre os níveis de Mn no cabelo e QI em população ambientalmente exposta (BOUCHARD et al, 2011; MENEZES-FILHO et al, 2011; RIOJAS-RODRÍGUEZ et al, 2010). Ellingsen e colaboradores (2008) também demonstraram, em trabalhadores, associação negativa entre marcadores de exposição ao Mn e o desempenho em teste que avalia memória operacional visual, embora não tenha sido utilizado o teste de Cubos de Corsi.

Embora a análise de correlação de Spearman tenha demonstrado associação entre o MnC e o desempenho motor da mão dominante e memória operacional visual, bem como entre o MnUn e a função motora da mão dominante, a análise multivariada não demonstrou significância quando covariáveis sociodemográficas foram incluídas na modelagem, sendo os biomarcadores removidos do modelo final. A partir da modelagem multivariada do presente estudo, pode-se inferir que um aumento de dez vezes nos níveis de Mn no cabelo dos adultos poderia refletir em uma perda de 4,7 pontos no QI estimado, independente do local de residência, sexo e escolaridade do indivíduo. Para a memória operacional visual, esse aumento nos níveis de Mn medidos através das unhas representaria uma diminuição de 3,3 pontos no desempenho do teste Cubos de Corsi, quando ajustados pelas mesmas covariáveis. Por fim, para o teste que avalia a flexibilidade cognitiva, um aumento de dez vezes nos níveis de Mn na unha poderia refletir em um aumento de quase um minuto no tempo médio de execução da tarefa. Resultados semelhantes foram descritos por Menezes-Filho e colaboradores (2011) em crianças de Cotegipe, onde foi estimada uma perda de 5,7 pontos no QI, independente do estado nutricional da criança e da escolaridade materna. Os nossos modelos de RLM demonstraram bons resultados ao satisfazerem aos pressupostos da regressão linear (normalidade na distribuição dos resíduos, linearidade e homocedasticidade), embora não tenha sido possível realizar uma validação externa dos modelos por divisão dos dados devido à necessidade de um maior número amostral.

Os pontos fortes deste trabalho foram a utilização, em conjunto, de quatro biomarcadores de exposição ao Mn e a utilização de ampla bateria de testes neuropsicológicos que avaliaram função cognitiva, executiva, motora, atenção, memória de longo prazo e operacional de todos os adultos que foram voluntários e estavam disponíveis nas duas comunidades impactadas pelas emissões da

eletrossiderúrgica. No entanto, uma importante limitação deste estudo, por razões de disponibilidade de recursos financeiros, foi a não mensuração dos níveis de Mn no ar nas duas comunidades concomitante com a monitorização biológica. A maioria dos trabalhos epidemiológicos realizados até então utilizou poucos biomarcadores de exposição para verificar o desempenho em apenas uma ou duas funções neuropsicológicas. Dentre as limitações, o pequeno número de participantes do sexo masculino impediu a realização de algumas inferências, principalmente naquelas que concernem à utilidade do MnAx como biomarcador capaz de prever baixo desempenho em testes neuropsicológicos.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo demonstraram ampla variabilidade e baixo desempenho nos testes neuropsicológicos na população de Cotegipe e Santa Luzia. Essas comunidades são caracterizadas pelo baixo nível socioeconômico, escolaridade e acesso a informações, covariáveis que sabidamente contribuem de maneira inversa para o bom desempenho em funções neuropsicológicas, como cognição, memória e atenção. Mesmo neste contexto sociodemográfico adverso, o comprometimento de algumas dessas funções em decorrência da exposição excessiva ao Mn ainda pode ser detectado em adultos.

Análise bivariada demonstrou diversas correlações entre os níveis biológicos de Mn e o desempenho em testes neuropsicológicos, fato que foi corroborado pela análise de regressão linear multivariada. Acreditamos que o principal achado deste estudo tenha sido as associações observadas entre a exposição excessiva ao Mn, medida através dos biomarcadores Mn no cabelo e nas unhas, e o comprometimento de funções neuropsicológicas de adultos expostos ambientalmente a este metal por via atmosférica. Esses resultados demonstram que o excesso de Mn no organismo tem tido impacto negativo sobre a função intelectual, memória operacional visual e flexibilidade cognitiva nos adultos das comunidades de Cotegipe e Santa Luzia.

As evidências obtidas pelo presente estudo demonstram a necessidade de se instalar medidas que minimizem a emissão atmosférica do Mn para que os impactos na saúde da população local sejam amenizados. Além disso, intervenções

educacionais e neuropsicológicas coletivas que compensem os danos já causados são altamente recomendadas.

O presente trabalho foi o primeiro a utilizar, em conjunto, quatro biomarcadores não invasivos para avaliar a associação existente entre exposição ao Mn e desfecho neuropsicológico. Os resultados obtidos puderam ratificar a utilidade do MnC como biomarcador capaz de estimar efeitos neuropsicológicos decorrentes da exposição crônica ao Mn, bem como demonstrar que o MnUn também pode ser útil neste propósito.

REFERÊNCIAS

- ASCHNER, J. L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. **Molecular Aspects of Medicine**, [S.l.], v. 26, n.4-5, p. 353-362, 2005.
- ASCHNER, M. et al. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.l.], v. 221, n. 2, p. 131-147, 2007.
- BADER, M. et al. Biomonitoring of manganese in blood, urine and axillary hair following low-dose exposure during the manufacture of dry cell batteries. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, [S.l.], v. 72, n. 8, p. 521-527, 1999.
- BAST-PETTERSEN, R. et al. Neuropsychological function in manganese alloy plant workers. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, [S.l.], v.77, n. 4, p. 277-287, 2004
- BOUCHARD, M. et al. Hair manganese and hyperactive behaviors: pilot study of school-age children exposed through tap water. **Environmental Health Perspectives**, [S.l.], v. 115, n. 1, p. 122-127, 2007.
- BOUCHARD, M. et al. Intellectual impairment in school-age children exposed to manganese from drinking water. **Environmental Health Perspectives**, [S.l.], v. 119, n. 1, p. 138-143, 2011.
- BOWLER, R. M. et al. Manganese exposure: Neuropsychological and neurological symptoms and effects in welders. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 27, n. 3, p. 315-326, 2006.
- BOWLER, R. M. et al. Dose–effect relationships between manganese exposure and neurological, neuropsychological and pulmonary function in confined space bridge welders. **Occupational and Environmental Medicine**, [S.l.], v. 64, n. 3, p. 167-177, 2007.
- BURTON, N. C.; GUILARTE, T. R. Manganese neurotoxicity: lessons learned from longitudinal studies in nonhuman primates. **Environmental Health Perspective**, [S.l.], v. 117, n. 3, p. 325-332, 2009.

COSTA, D. I. et al. Avaliação neuropsicológica da criança. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 2, p. 11-116, 2004.

COWAN, D. M. et al. Manganese exposure among smelting workers: blood manganese-iron ratio as a novel tool for manganese exposure assessment. **Biomarkers**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 3-16, 2009.

DUCHESNE, M.; MATTOS, P. Normatização de um teste computadorizado de atenção visual (TAVIS). **Arq. Neuropsiquiatr.**, [S.l.], v. 55, n. 1, p. 62-69, 1997.

ELLINGSEN, D. G. et al. A neurobehavioral study of current and former welders exposed to manganese. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 29, n. 1, p. 48-59, 2008.

GEISSEN, V. et al. Soil and water pollution in a banana production region in tropical Mexico. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, [S.l.], v. 85, n. 4, p. 407-413, 2010.

GIL, F. et al. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 409, n. 6, p. 1172-1180, 2011.

HERNÁNDEZ-BONILLA, D. et al. Environmental exposure to manganese and motor function of children in Mexico. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 615-621, 2011.

KHAN, K. et al. Manganese exposure from drinking water and children's classroom Behavior in Bangladesh. **Environmental Health Perspective**, [S.l.], v. 119, n. 10, p. 1501-1506, 2011.

KHAN, K. et al. Manganese exposure from drinking water and children's academic achievement. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 91-97, 2012.

KIM, Y. et al. Motor function in adults of an Ohio community with environmental manganese exposure. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 606-614, 2011.

LAFAYETTE INSTRUMENTS. **Grooved PegBoard Test User Instructions**. 2002.

LAOHAUDOMCHOK, W. et al. Toenail, blood, and urine as biomarkers of manganese exposure. **J. Occup. Environ. Med.**, [S.l.], v. 53, n. 5, p. 506-510, 2011.

LUCCHINI, R. G. et al. Tremor, olfactory and motor changes in Italian adolescents exposed to historical ferro-manganese emission. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 4, p. 687-696, 2012.

MÄDER-JOQUIM, M. J. O neuropsicólogo e seu paciente: introdução aos princípios da avaliação neuropsicológica. In: MALLOY-DINIZ, L. F. et al. **Avaliação neuropsicológica**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 46-57.

MAGALHÃES, S. S.; HAMDAN, A. C. The Rey Auditory Verbal Learning Test: normative data for the Brazilian population and analysis of the influence of

demographic variables. **Psychology & Neuroscience**, [S.I.], v. 3, n. 1, p. 85-91, 2010.

MALLOY-DINIZ, L. F. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, [S.I.], v. 29, n. 4, p. 324-329, 2007.

MALLOY-DINIZ, L. F. et al. Exame das funções executivas. In:___ **Avaliação neuropsicológica**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 94-113.

MEHRA, R.; JUNEJA, M. Elements in scalp hair and nails indicating metal body burden in polluted environment. **Journal of Scientific & Industrial Research**, [S.I.], v. 64, 2005.

MENEZES, M. A. B. C. et al. How suitable are scalp hair and toenail as biomonitors? **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, [S.I.], v. 259, n. 1, p. 81-86, 2004.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. High levels of hair manganese in children living in the vicinity of a ferro-manganese alloy production plant. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 30, n. 6, p. 1207-1213, 2009a.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. Manganese exposure and the neuropsychological effect on children and adolescents: a review. **Pan. Am. J. Public Health**, [S.I.], v. 26, n. 6, 2009b.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. Elevated manganese and cognitive performance in school-aged children and their mothers. **Environmental Research**, [S.I.], v. 111, v. 1, p.156-163, 2011.

MERGLER, D. et al. Nervous system dysfunction among workers with long-term exposure to manganese. **Environmental Research**, [S.I.], v. 64, n. 2, p. 151-180, 1994.

MYERS, J. E. et al. Nervous system effects of occupational manganese exposure on South African manganese mineworkers. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 24, n. 4-5, p. 649-656, 2003.

NASCIMENTO, E.; FIGUEIREDO, V. L. M. WISC-III e WAIS-III: Alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, [S.I.], v. 15, n 3, p. 603-612, 2002.

PAULA, J. J. et al. Propriedades psicométricas de um protocolo neuropsicológico breve para uso em populações geriátricas. **Rev. Psiq. Clin.**, [S.I.], v. 37, n. 6, p. 246-250, 2010.

REANEY, S. H. et al. Brain accumulation and toxicity of Mn(II) and Mn(III) exposures. **Toxicological Sciences**, [S.I.], v. 93, n. 1, p. 114-124, 2006.

RIOJAS-RODRÍGUEZ, H. et al. Intellectual function in Mexican children living in a mining area and environmentally exposed to manganese. **Environmental Health Perspective**, [S.I.], v. 118, n. 10, p. 1465-1470, 2010.

RIVERA-MANCÍA, S. et al. Manganese accumulation in the CNS and associated pathologies. **Biometals**, [S.I.], v. 24, n. 5, p. 811-825, 2011.

RODRÍGUEZ-AGUDELO, Y. et al. Motor alterations associated with exposure to manganese in the environment in Mexico. **Science of the Total Environment**, [S.I.], v. 368, n. 2-3, p. 542-556, 2006.

ROELS, H. A. et al. Manganese exposure and cognitive deficits: a growing concern for manganese neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 872-880, 2012.

SÁNCHEZ-CUBILLO, I. et al. Construct validity of the Trail Making Test: Role of task-switching, working memory, inhibition/interference control, and visuomotor abilities. **Journal of the International Neuropsychological Society**, [S.I.], v. 15, n. 3, p. 438-450, 2009.

SCHNEIDER, J. S. et al. Effects of chronic manganese exposure on working memory in non-human primates. **Brain Res.**, v. 1258, p. 86-95, 2009.

SEN, S. et al. Manganese accumulation in the olfactory bulbs and other brain regions of "asymptomatic" welders. **Toxicological Sciences**, [S.I.], v. 121, n. 1, p. 160-167, 2011.

STRAUSS, E. et al. Attention. In: **_____ A compendium of neuropsychological tests: administration, norms and commentary**. 3.ed. New York: Oxford University Press, 2006. p. 546-677.

TORRES-AGUSTÍN, R. et al. Effect of environmental manganese exposure on verbal learning and memory in Mexican children. **Environmental Research**, 2012. In Press.

WANG, D. et al. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. **Toxicology Letters**, [S.I.], v. 176, n. 1, p. 40-47, 2008.

WASSERMAN, G. A. et al. Water manganese exposure and children's intellectual function in Arahazar, Bangladesh. **Environmental Health Perspective**, [S.I.], v. 114, n. 1. p. 124-129, 2006.

WASTENSSON, G. et al. Neuromotor function in ship welders after cessation of manganese exposure. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, [S.I.], v. 85, n. 6, p. 703-713, 2012.

WECHSLER, D. **WAIS III - Escala de inteligência Wechsler para adultos**: manual para administração e avaliação. [S.I.]: Editora Casa do Psicólogo, 2004. 412 p.

WONGWIT, W. et al. Comparison of biological specimens for manganese determination among highly exposed welders. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, [S.I.], v. 35, n. 3, p. 764-769, 2004.

ZHENG, W. et al. Biomarkers of manganese intoxication. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 32, n. 1, p. 1-8, 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou altos níveis de Mn na população de estudo, independente do biomarcador utilizado para se avaliar a exposição. A análise dos níveis de Mn de acordo as comunidades demonstrou que a população de Santa Luzia, mesmo estando geograficamente mais distante da fonte de emissão do poluente, encontra-se mais exposta do que a população de Cotegipe. O modelo de dispersão dos ventos pode explicar esta diferença vista entre as comunidades, embora seja necessário determinar os níveis de Mn na atmosfera de ambas as comunidades para corroborar esta hipótese.

Até onde sabemos, este foi o primeiro estudo que utilizou, em conjunto, quatro biomarcadores não invasivos para se avaliar a exposição ambiental ao Mn e diversos desfechos neuropsicológicos decorrentes desta exposição. Biomarcadores menos convencionais (MnAx, MnUn e MnSal) apresentaram o mesmo comportamento do MnC na caracterização da exposição das comunidades. Nossos resultados também demonstraram que o MnAx e MnUn podem ser alternativas ao MnC na avaliação da exposição ao Mn, haja vista as boas correlações verificadas entre esses biomarcadores. Adicionalmente, o MnUn, o biomarcador utilizado no presente estudo que avalia exposição de mais longo prazo ao Mn, apresentou correlação positiva com o tempo de moradia do voluntário na comunidade, uma variável que, em nosso estudo, reflete exposição crônica e cumulativa ao Mn.

Os níveis biológicos de Mn estiveram associados com baixos desempenhos em testes neuropsicológicos. Apenas o MnSal não apresentou associação significativa com os desfechos avaliados. Como os níveis de Mn na saliva é um reflexo da concentração deste metal no sangue e a determinação de Mn sanguíneo não tem demonstrado ser um bom biomarcador para se avaliar exposição ambiental ao Mn, era de se esperar pouca utilidade do MnSal no presente trabalho. O MnC e MnUn, diferentemente, apresentaram correlações significativas com diversos desfechos neuropsicológicos. Análise de regressão multivariada, adicionalmente, demonstrou papel significativo destes biomarcadores em prever baixo desempenho neuropsicológico. Hipoteticamente, um aumento de dez vezes na concentração de Mn no organismo, medido através do cabelo, poderia refletir em uma perda de 4,7 pontos no QI, enquanto o mesmo aumento na concentração, medido através da unha, representaria uma diminuição de 3,3 pontos no desempenho do teste Cubos

de Corsi e um aumento médio de quase um minuto no tempo de execução da tarefa de flexibilidade cognitiva, independente do local de residência, sexo e escolaridade do voluntário. A extrapolação desses resultados, todavia, deve ser feita com cautela devido às peculiaridades da população estudada.

Os resultados aqui apresentados podem ser úteis para a discussão científica existente na literatura que busca um biomarcador ideal para se avaliar efeitos neuropsicológicos decorrentes da exposição ao Mn. A conveniência e serventia de outros biomarcadores não invasivos (principalmente o MnUn) que até então não haviam sido utilizados para se avaliar comprometimento neuropsicológico relacionados ao Mn, também puderam ser verificadas. Entretanto, novos estudos são necessários para melhor caracterizar a cinética de eliminação do Mn através da unha, cabelo axilar e saliva, bem como estabelecer valores de referência para aqueles biomarcadores que ainda não estão disponíveis esta informação.

A grande contribuição deste trabalho para as comunidades consiste em ter demonstrado comprometimento neuropsicológico dos adultos em decorrência da exposição excessiva ao Mn. Para as comunidades, é importante saber que mesmo com o passar dos anos ainda há elevada exposição ao Mn e que esta exposição tem afetado as funções neuropsicológicas da população local. Frente às evidências apresentadas aqui, há uma notável necessidade de se adotar intervenções práticas para minimizar a emissão atmosférica do Mn e assim amenizar o impacto na saúde da população de Cotegipe e Santa Luzia. Condutas educacionais e neuropsicológicas coletivas também seriam valiosas para compensar os danos já causados nas funções neuropsicológicas dos adultos e crianças destas comunidades.

REFERÊNCIAS

- AFRIDI, H. I. et al. Levels of arsenic, cadmium, lead, manganese and zinc in biological samples of paralysed steel mill workers with related to controls. [S.I.], v. 144, n. 1-3, p. 164-182, 2011.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). **Toxicological profile for manganese.** [S.I.], 2008.
- ASCHNER, J. L.; ASCHNER, M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. **Molecular Aspects of Medicine**, [S.I.], v. 26, n.4-5, p. 353-362, 2005.
- ASCHNER, M. et al. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.I.], v. 221, n. 2, p. 131-147, 2007.
- BADER, M. et al. Biomonitoring of manganese in blood, urine and axillary hair following low-dose exposure during the manufacture of dry cell batteries. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, [S.I.], v. 72, n. 8, p. 521-527, 1999.
- BARBOSA-JUNIOR, F. et al. Evaluation of the use of salivary lead levels as a surrogate of blood lead or plasma lead levels in lead exposed subjects. **Arch. Toxicol.**, [S.I.], v. 80, n. 10, p. 633-637, 2006.
- BAST-PETTERSEN, R. et al. Neuropsychological function in manganese alloy plant workers. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, [S.I.], v.77, n. 4, p. 277-287, 2004
- BOTTA, C. et al. Assessment of occupational exposure to welding fumes by inductively coupled plasma-mass spectroscopy and by the alkaline comet assay. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, [S.I.], v. 47, n. 4, p. 284-295, 2006.
- BOUCHARD, M. et al. Manganese exposure and age: neurobehavioral performance among alloy production workers. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S.I.], v. 19, 2005.
- BOUCHARD, M. et al. Hair manganese and hyperactive behaviors: pilot study of school-age children exposed through tap water. **Environmental Health Perspectives**, [S.I.], v. 115, n. 1, p. 122-127, 2007.
- BOUCHARD, M. et al. Intellectual impairment in school-age children exposed to manganese from drinking water. **Environmental Health Perspectives**, [S.I.], v. 119, n. 1, p. 138-143, 2011.
- BOWLER, R. M. et al. Manganese exposure: Neuropsychological and neurological symptoms and effects in welders. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 27, n. 3, p. 315-326, 2006.
- BOWLER, R. M. et al. Dose–effect relationships between manganese exposure and neurological, neuropsychological and pulmonary function in confined space bridge

welders. **Occupational and Environmental Medicine**, [S.l.], v. 64, n. 3, p. 167-177, 2007.

BOWLER, R. M. et al. Prospective study on neurotoxic effects in manganese-exposed bridge construction welders. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 32, 2011.

BRENNEMAN, K. A. et al. Direct olfactory transport of inhaled manganese ($^{54}\text{MnCl}_2$) to the rat brain: toxicokinetic investigations in a unilateral nasal occlusion model. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S.l.], v. 169, n. 3, p. 238-248, 2000.

BURTON, N. C.; GUILARTE, T. R. Manganese neurotoxicity: lessons learned from longitudinal studies in nonhuman primates. **Environmental Health Perspective**, [S.l.], v. 117, n. 3, p. 325-332, 2009.

CARNEIRO, M. T. W. D. et al. Intervalos de referência para elementos menores e traço em cabelo humano para a população da cidade do Rio de Janeiro – Brasil. **Química Nova**, [S.l.], v. 25, n. 1, p. 37-45, 2002.

CARNEIRO, M. F. H. Background values for essential and toxic elements in children's nails and correlation with hair levels. **Biol. Trace Elem. Res.**, [S.l.], v. 144, n.1-3, p. 339-350, 2011.

COSTA, D. I. et al. Avaliação neuropsicológica da criança. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 2, p. 11-116, 2004.

COSTA, D. L. Air pollution. In: KLAASSEN, C. D. (Editor). **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 7.ed. New York: McGraw-Hill, 2008. p. 1119-1156.

COWAN, D. M. et al. Manganese exposure among smelting workers: blood manganese-iron ratio as a novel tool for manganese exposure assessment. **Biomarkers**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 3-16, 2009.

DORMAN, D. C. et al. Tissue manganese concentrations in young male rhesus monkeys following subchronic manganese sulfate inhalation. **Toxicological Sciences**, [S.l.], v. 92, n. 1, p. 201-210, 2006.

DUCHESNE, M.; MATTOS, P. Normatização de um teste computadorizado de atenção visual (TAVIS). **Arq. Neuropsiquiatr.**, [S.l.], v. 55, n. 1, p. 62-69, 1997.

ELLINGSEN, D. G. et al. A neurobehavioral study of current and former welders exposed to manganese. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 29, n. 1, p. 48-59, 2008.

FITSANAKIS, V. A. et al. The use of magnetic resonance imaging (MRI) in the study of manganese neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 27, n. 5, p. 798-806, 2006.

FLYNN, M. R.; SUSI, P. Neurological risks associated with manganese exposure from welding operations – a literature review. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, [S.l.], v. 212, 2009.

GEISSEN, V. et al. Soil and water pollution in a banana production region in tropical Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, [S.l.], v. 85, n. 4, p. 407-413, 2010.

GIL, F. et al. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. *Science of the Total Environment*, [S.l.], v. 409, n. 6, p. 1172-1180, 2011.

GOMES, R. et al. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 565-574, 2007.

GUPCHUP, G. V.; ZATZ, J. L. Structural characteristics and permeability properties of the human nail: a review. *J. Cosmet. Sci.*, [S.l.], v. 50, p. 363-385, 1999.

HAYNES, E. N. et al. Environmental manganese exposure in residents living near a ferromanganese refinery in Southeast Ohio: A pilot study. *Neurotoxicology*, [S.l.], v. 31, n. 5, p. 468-474, 2010.

HERNÁNDEZ-BONILLA, D. et al. Environmental exposure to manganese and motor function of children in Mexico. *Neurotoxicology*, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 615-621, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Simões Filho – BA. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?r=2&codmun=293070>>. Acesso em: 30 mar. 2013.

KHAN, K. et al. Manganese exposure from drinking water and children's classroom Behavior in Bangladesh. *Environmental Health Perspective*, [S.l.], v. 119, n. 10, p. 1501-1506, 2011.

KHAN, K. et al. Manganese exposure from drinking water and children's academic achievement. *Neurotoxicology*, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 91-97, 2012.

KILE, M. L. et al. Association between total ingested arsenic and toenail arsenic concentrations. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, [S.l.], v. 42, n. 12, p. 1827-1834, 2007.

KIM, Y. J. et al. Effects of smoking on trace metal levels in saliva. *Oral Diseases*, [S.l.], v. 16, n. 8, p. 823-830, 2010.

KIM, Y. et al. Motor function in adults of an Ohio community with environmental manganese exposure. *Neurotoxicology*, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 606-614, 2011.

LAFAYETTE INSTRUMENTS. **Grooved PegBoard Test User Instructions**. 2002.

LAOHAUDOMCHOK, W. et al. Toenail, blood, and urine as biomarkers of manganese exposure. *J. Occup. Environ. Med.*, [S.l.], v. 53, n. 5, p. 506-510, 2011.

LUCCHINI, R. G. et al. Tremor, olfactory and motor changes in Italian adolescents exposed to historical ferro-manganese emission. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 4, p. 687-696, 2012.

MÄDER-JOQUIM, M. J. O neuropsicólogo e seu paciente: introdução aos princípios da avaliação neuropsicológica. In: MALLOY-DINIZ, L. F. et al. **Avaliação neuropsicológica**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 46-57.

MAGALHÃES, A. A. S. Fundação Crê além da compensação ambiental: um estudo de caso. Salvador, 2007.

MAGALHÃES, S. S.; HAMDAN, A. C. The Rey Auditory Verbal Learning Test: normative data for the Brazilian population and analysis of the influence of demographic variables. **Psychology & Neuroscience**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 85-91, 2010.

MALLOY-DINIZ, L. F. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, [S.l.], v. 29, n. 4, p. 324-329, 2007.

MALLOY-DINIZ, L. F. et al. Exame das funções executivas. In:___ **Avaliação neuropsicológica**. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 94-113.

McKEEMAN, L. D. L. Absorption, distribution, and excretion of toxicants. In: KLAASSEN, C. D. (Editor). **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 7.ed. New York: McGraw-Hill, 2008. p. 131-160.

MEHRA, R.; JUNEJA, M. Elements in scalp hair and nails indicating metal body burden in polluted environment. **Journal of Scientific & Industrial Research**, [S.l.], v. 64, 2005.

MEHRA, R.; THAKUR, A. S. Relationship between lead, cadmium, zinc, manganese and iron in hair of environmentally exposed subjects. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012. In Press.

MENEZES, M. A. B. C. et al. How suitable are scalp hair and toenail as biomonitors? **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, [S.l.], v. 259, n. 1, p. 81-86, 2004.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. High levels of hair manganese in children living in the vicinity of a ferro-manganese alloy production plant. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 30, n. 6, p. 1207-1213, 2009a.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. Manganese exposure and the neuropsychological effect on children and adolescents: a review. **Pan. Am. J. Public Health**, [S.l.], v. 26, n. 6, 2009b.

MENEZES-FILHO, J. A. Níveis elevados de manganês e déficit cognitivo em crianças residentes nas proximidades de uma metalúrgica ferro-manganês na Região Metropolitana de Salvador, Bahia. Rio de Janeiro, 2009c.

MENEZES-FILHO, J. A. et al. Elevated manganese and cognitive performance in school-aged children and their mothers. **Environmental Research**, [S.l.], v. 111, n. 1, p.156-163, 2011.

MERGLER, D. et al. Nervous system dysfunction among workers with long-term exposure to manganese. **Environmental Research**, [S.l.], v. 64, n. 2, p. 151-180, 1994.

MERGLER, D. Neurotoxic effects of low level exposure to manganese in human populations. **Environmental Research Section A**, [S.l.], v. 80, n. 2, p. 99-102, 1999.

MEYER-BARON, M. et al. Performance alterations associated with occupational exposure to manganese: a meta-analysis. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 30, 2009.

MIEKELEY, N. et al. How reliable are human hair reference intervals for trace elements? **The Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 218, n. 1, p. 9-17, 1998.

MYERS, J. E. et al. Nervous system effects of occupational manganese exposure on South African manganese mineworkers. **Neurotoxicology**, [S.l.], v. 24, n. 4-5, p. 649-656, 2003.

NASCIMENTO, E.; FIGUEIREDO, V. L. M. WISC-III e WAIS-III: Alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, [S.l.], v. 15, n 3, p. 603-612, 2002.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Manganese. In:___ **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc**. Washington DC: National Academies Press, 2001. p. 394-419. Disponível em: <http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10026&page=R1>. Acesso em: 01 dez. 2012.

NOWAK, B.; CHMIELNICKA, F. Relationship of lead and cadmium to essential elements in hair, teeth, and nails of environmentally exposed people. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.l.], v. 46, n. 3, p. 265-274, 2000.

OLMEDO, P. et al. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [S.l.], v. 659, n. 1-2, p. 60-67, 2010.

PAULA, J. J. et al. Propriedades psicométricas de um protocolo neuropsicológico breve para uso em populações geriátricas. **Rev. Psiq. Clin.**, [S.l.], v. 37, n. 6, p. 246-250, 2010.

PEREIRA, R. et al. Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S. Domingos mine, Portugal). **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 327, n. 1-3, p. 81-92, 2004.

RACETTE, B. A. et al. Pathophysiology of manganese-associated neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 881-886, 2012.

REANEY, S. H. et al. Brain accumulation and toxicity of Mn(II) and Mn(III) exposures. **Toxicological Sciences**, [S.I.], v. 93, n. 1, p. 114-124, 2006.

RIOJAS-RODRÍGUEZ, H. et al. Intellectual function in Mexican children living in a mining area and environmentally exposed to manganese. **Environmental Health Perspective**, [S.I.], v. 118, n. 10, p. 1465-1470, 2010.

RIVERA-MANCÍA, S. et al. Manganese accumulation in the CNS and associated pathologies. **Biometals**, [S.I.], v. 24, n. 5, p. 811-825, 2011.

RODRÍGUEZ-AGUDELO, Y. et al. Motor alterations associated with exposure to manganese in the environment in Mexico. **Science of the Total Environment**, [S.I.], v. 368, n. 2-3, p. 542-556, 2006.

ROELS, H. A. et al. Manganese exposure and cognitive deficits: a growing concern for manganese neurotoxicity. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 33, n. 4, p. 872-880, 2012.

ROTH, J. A. Homeostatic and toxic mechanisms regulating manganese uptake, retention, and elimination. **Biol. Res.**, v. 39, n. 1, p. 45-57, 2006.

SAMANTA, G. et al. Arsenic and other elements in hair, nails, and skin-scales of arsenic victims in West Bengal, India. **Science of the Total Environment**, [S.I.], v. 326, n. 1-3, p. 33-47, 2004.

SÁNCHEZ-CUBILLO, I. et al. Construct validity of the Trail Making Test: Role of task-switching, working memory, inhibition/interference control, and visuomotor abilities. **Journal of the International Neuropsychological Society**, [S.I.], v. 15, n. 3, p. 438-450, 2009.

SANTAMARIA, A. B. Manganese exposure, essentiality & toxicity. **Indian J. Med. Res.**, v. 128, n. 4, p. 484-500, 2008.

SARC, M; LUCCHINI, R. Manganese. In: NORDBERG, G. F. et al (Editores). **Handbook on the toxicology of metals**. 3. ed. Elsevier, 2007.

SCHNEIDER, J. S. et al. Effects of chronic manganese exposure on working memory in non-human primates. **Brain Res.**, v. 1258, p. 86-95, 2009.

SEN, S. et al. Manganese accumulation in the olfactory bulbs and other brain regions of "asymptomatic" welders. **Toxicological Sciences**, [S.I.], v. 121, n. 1, p. 160-167, 2011.

SLOTNICK, M. J. et al. Profiles of trace elements in toenails of Arab-Americans in the Detroit Area, Michigan. **Biological Trace Element Research**, [S.I.], v. 107, n. 2, p. 113-126, 2005.

STANDRIDGE, J. S. et al. Effect of chronic low level manganese exposure on postural balance: A pilot study of residents in southwest Ohio. **J Occup. Environ. Med.**, [S.l.], v. 50, n. 12, p. 1421-1429, 2008.

STRAUSS, E. et al. Attention. In: ____ **A compendium of neuropsychological tests: administration, norms and commentary**. 3.ed. New York: Oxford University Press, 2006. p. 546-677.

TOBIN, D. J. The biogenesis and growth of human hair. In: ____ **Hair in toxicology: an important bio-monitor**. [S.l.]: The Royal Society of Chemistry, 2005. p. 3-33.

TORRENTE, M. et al. Metal concentrations in hair and cognitive assessment in an adolescent population. **Biological Trace Element Research**, v. 104, n. 3, p. 215-221, 2005.

TORRES-AGUSTÍN, R. et al. Effect of environmental manganese exposure on verbal learning and memory in Mexican children. **Environmental Research**, 2012. In Press.

US-EPA. Health assessment document for manganese. 1984.

US-EPA. Manganese, 1993. Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0373.htm>>. Acesso em: 26 mar. 2013.

VEREDA. Estudo epidemiológico para avaliação de exposição e risco em saúde da comunidade de Cotegipe, Simões Filho – BA, 2004. 61 p.

WANG, D. et al. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. **Toxicology Letters**, [S.l.], v. 176, n. 1, p. 40-47, 2008.

WASSERMAN, G. A. et al. Water manganese exposure and children's intellectual function in Arahazar, Bangladesh. **Environmental Health Perspective**, [S.l.], v. 114, n. 1. p. 124-129, 2006.

WASTENSSON, G. et al. Neuromotor function in ship welders after cessation of manganese exposure. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, [S.l.], v. 85, n. 6, p. 703-713, 2012.

WATANABE, K. et al. Mn and Cu concentrations in mixed saliva of elementary school children in relation to sex, age, and dental caries. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, [S.l.], v. 23, n. 2, p. 93-99, 2009.

WECHSLER, D. **WAIS III - Escala de inteligência Wechsler para adultos**: manual para administração e avaliação. [S.l.]: Editora Casa do Psicólogo, 2004. 412 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Manganese in drinking water. 2011. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/manganese.pdf>. Acesso em: 02 Abr. 2013.

WONGWIT, W. et al. Comparison of biological specimens for manganese determination among highly exposed welders. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, [S.I.], v. 35, n. 3, p. 764-769, 2004.

WRIGHT, R. O. et al. Neuropsychological correlates of hair arsenic, manganese, and cadmium levels in school-age children residing near a hazardous waste site. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 27, n. 2, p. 210-216, 2006.

YAEMSIRI, S. et al. Growth rate of human fingernails and toenails in healthy American young adults. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, [S.I.], v. 24, n. 4, p. 420-423, 2010.

ZHENG, W. et al. Biomarkers of manganese intoxication. **Neurotoxicology**, [S.I.], v. 32, n. 1, p. 1-8, 2011.

ZONI, S. et al. Neuropsychological testing for the assessment of manganese neurotoxicity: a review and a proposal. **American Journal of Industrial Medicine**, [S.I.], v. 50, n. 11, p. 812-830, 2007.

APÊNDICE A – Questionário Sociodemográfico

Cotegipe e Santa Luzia – BA
Questionário Adultos

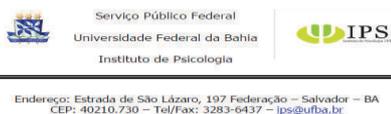
Número do Questionário: _____	Data da entrevista: ___/___/___	Horário de Início: ___:___ h
Entrevistador: _____		Código do Entrevistador: _____

Nome Completo do Entrevistado: _____			
Endereço Completo: _____ _____			
Telefone para contato: _____			
Coordenadas - GPS (localização da casa)	E: 38° _____	S: 12° _____	Código localização: _____
IDENTIFICAÇÃO			
Q 1	Data de Nascimento: _____	Idade: _____	
Q 2	Etnia:	1. () Branca	2. () Negra
		3. () Pardo	4. () Outras

SÓCIO-ECONÔMICO, HÁBITOS DE MORADIA, HÁBITOS DE VIDA E ATIVIDADE OCUPACIONAL.					
Q 3	Renda familiar mensal (em salário mínimo):	1. Até 1: ()	2. Entre 1 e 2: ()	3. Entre 2 e 5: ()	4. Acima de 5: ()
Q 4	Escolaridade	Fundamental 1. Incompleto: () 2. Completo: ()	Médio 3. Incompleto: () 4. Completo: ()	Superior 5. Incompleto: () 6. Completo: ()	7. Outra: () _____
Q 5	Há quanto tempo mora em Cotegipe / Santa Luzia?	1. Anos: _____		9. NS/NR: _____	
Q 6	Você nasceu em Cotegipe / Santa Luzia?	1. Sim: ()		2. Não: ()	
Q 7	Seus pais moravam em Cotegipe / Santa Luzia?	1. Sim: ()		2. Não: ()	
Q 8	Quanto tempo você permanece em sua residência por dia (horas)?	1. Manhã: _____	2. Tarde: _____	3. Noite: _____	
Q 9	Qual o destino do lixo?	1. Queima ()	2. Enterra ()	3. Joga no rio/mangue()	4. Coletado ()
Q 10	Você costuma alimentar-se de frutas produzidas em Cotegipe / Santa Luzia?	1. Sim: ()	2. Não: ()	Se sim, quais? _____	
Q 11	Você é fumante?	1. Sim: ()	2. Não: ()		
Q 12	Convive com algum fumante?	1. Sim: ()	2. Não: ()		
Q 13	Há quanto tempo é fumante? (Apenas se a resposta da Q 11 for Sim)	1. Anos: _____			
Q 14	Quantos cigarros fuma por dia? (Apenas se a resposta da Q 11 for Sim)	_____		9. NS/NR: ()	
Q 15	Qual a marca/fabricante do cigarro que fuma? (Apenas se a resposta da Q 11 for Sim)	_____			
Q 16	Você é ex-fumante?	1. Sim: ()	2. Não: ()		
Q 17	Há quanto tempo parou de fumar? (Apenas se a resposta da Q 16 for Sim)	_____		9. NS/NR: ()	

Q 18	Ingere bebida alcoólica?	1. Sim: ()	2. Não: ()		
Q 19	Qual a frequência com que ingere bebida alcoólica (vezes por semana)? (Apenas se a resposta da Q 18 for Sim)	_____			
Q 20	Atividade ocupacional	1. Desempregado: ()	2. Estudante: ()	3. Empregado Informal: ()	4. E. Formal ()
Q 21	Qual sua atividade profissional? (Apenas se a resposta da Q 20 for "Empregado")	_____			
Q 22	Há quanto tempo você trabalha nesta profissão? (Apenas se a resposta da Q 20 for "Empregado")	_____			
Q 23	Em seu trabalho tem contato com produtos químicos? (Apenas se a resposta da Q 20 for "Empregado")	1. Sim: ()	2. Não: ()	3. NS/NR: ()	Se sim, quais? _____
Q 24	Faz algum serviço profissional extra ("bico")?	1. Sim: ()	2. Não: ()	Qual? _____	
Q 25	Com que frequência faz este serviço extra (ex.: final de semana, final da jornada diária de serviço etc)? (Apenas se a resposta da Q 24 for Sim)	_____			
Q 26	Já trabalhou ou trabalha na ex-SIBRA (VALE)?	1. Sim: ()	2. Não: ()	3. Funcionário atual ()	4. Ex funcionário: ()
Q 27	Há quanto tempo trabalha nesta fábrica? (Apenas se for funcionário atual)	_____		9. NS/NR: ()	
Q 28	Parou de trabalhar nesta fábrica há quanto tempo? (Apenas se for ex funcionário)	_____		9. NS/NR: ()	
Q 29	Trabalhou na fábrica por quanto tempo? (Apenas se for ex funcionário)	_____		9. NS/NR: ()	
Q 30	Cor do cabelo	1. Preto ()	2. Castanho escuro ()	3. Castanho claro ()	4. Loiro () 5. Ruivo ()
Q 31	Aspecto do cabelo	1. Liso ()	2. Ondulado ()	3. Crespo ()	4. Outros ()
Q 32	Você fez algum tratamento recente no cabelo?	1. Descoloriu: ()	2. Tingiu: ()	3. Alisou: ()	4. Não: ()
Q 33	Usa shampoo?	1. Sim: () 2. Não () Marca: _____			
Q 34	Usou desodorante hoje?	1. Sim: () 2. Não () Marca: _____			
	Amostras coletadas	1. Cabelo: ()	2. Cabelo axilar: ()	3. Unha: ()	3. Saliva: ()
Data final da entrevista: ___/___/___			Horário de Término: ___:___ h		
Recusa do Questionário					
Observações		_____ _____			

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Título do Projeto: Efeitos neuropsicológicos e na saúde de duas comunidades expostas a metais pesados

1. Convite

Você está sendo convidado a participar, voluntariamente, de um estudo de pesquisa que visa avaliar os possíveis efeitos decorrentes da exposição a longo prazo a poeira e fumaça da indústria metalúrgica de ferro manganês. Antes de decidir, é importante que você saiba o porquê a pesquisa está sendo realizada e o que será feito. Pedimos para que você leia com atenção as informações a seguir e, caso ache necessário, pode nos perguntar sobre algo que não esteja claro e obter assim mais informações sobre a pesquisa.

2. Questões de interesse do participante

2.1 Propósito do estudo

O estudo tem por objetivo avaliar o déficit intelectual em adultos expostos ao manganês em seu ambiente de moradia através da determinação deste metal em amostras biológicas não invasivas. Neste estudo, além das amostras que serão coletadas (cabelo, cabelo da axila, unha e saliva), serão aplicados questionários e testes para avaliar a função intelectual dos voluntários.

2.2 Escolha dos participantes

As pessoas escolhidas para participar do estudo são aquelas que residem próximo a uma usina de ferro manganês. Estas pessoas estão expostas, através do ar, ao manganês, que é um metal que pode estar associado ao seu comprometimento intelectual. Serão estudadas aproximadamente 100 (cem) pessoas que, de forma semelhante, estão expostas ao manganês em seu ambiente de moradia.

2.3 Participação

A sua participação no estudo não é obrigatória. Se decidir participar, você deve assinar esse formulário em duas vias e manter uma cópia com você. Se decidir participar, mas mudar de ideia durante a pesquisa poderá sair a qualquer momento. As pessoas que decidirem participar da pesquisa responderão a um questionário e a psicotestes, além de fornecer as amostras de cabelo da região da nuca, cabelo do axila, unhas da mão e saliva. A aplicação do questionário, dos testes psicológicos e a coleta dos materiais biológicos serão feitas em sua própria comunidade, em local e data a combinar.

3. Métodos da pesquisa

Aos participantes será aplicado um questionário para obter informações quanto aos dados socioeconômicos, se fuma, trabalho (exposição no ambiente de trabalho), consumo de bebida alcoólica, exposição a produtos químicos, moradia, estado geral de saúde etc. Serão aplicados psicotestes para avaliar a memória, habilidade manual e capacidade de raciocínio.

Serão coletadas 4 (quatro) amostras biológicas, as quais consistirão de uma mecha de cabelo da região da nuca de aproximadamente 0,5cm de diâmetro, cabelo da axila (apenas para os homens), unha e saliva.

4. Alterações no modo de vida

As pessoas escolhidas para participar do estudo não terão nenhuma restrição no estilo de vida. A alimentação, as atividades diárias, as atividades no local de trabalho etc. podem ser mantidas normalmente.

5. Desconforto e riscos

O participante poderá ter o desconforto de apresentar uma leve falha no cabelo na região da nuca, local em que a mecha será coletada. Todavia, como o cabelo cresce a uma taxa de aproximadamente 1 cm ao mês, rapidamente esta falha deixará de ser percebida.

6. Benefícios para o participante

Não há benefícios imediatos para o participante. Somente ao final do estudo é que se pode concluir a presença de algum benefício, o qual pode ser a informação dos efeitos promovidos pela exposição ao manganês. As informações que obtivermos deste estudo também poderão ser úteis no futuro para identificar melhor o risco que outras pessoas expostas ao manganês no ambiente de moradia possuem.

7. Contato para informação adicional

Em qualquer etapa do estudo você poderá ter acesso aos pesquisadores para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são o Dr. Neander Abreu – Neuropsicólogo, Instituto de Psicologia, Universidade Federal da Bahia, Estrada de São Lázaro, Federação, Salvador – Ba, Tel. 71 3283-6437 e o Dr. José Antonio Menezes Filho – Coordenador do Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFBA, Rua Barão de Jeremoabo, s/n, Campus Universitário de Ondina, Salvador, Bahia, CEP 40.170-115, tel: (71) 3283-6960. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira UFBA, localizado na Rua do Limoeiro, nº 137 – Nazaré - Cep.: 40.055-150 Salvador, BA Fone.: 55 71 3283-9210 / 9211 (provisório). E-mails: cepmco@ufba.br/ cepmco@gmail.com.

8. Sigilo na participação

Sua participação será mantida em sigilo. Apenas os pesquisadores envolvidos no estudo terão acesso às informações primárias coletadas.

9. Resultados do estudo

Os resultados do estudo provavelmente serão publicados e apresentados à comunidade científica. Também nessas publicações será mantido o sigilo de sua participação, de modo que você não poderá ser identificado em qualquer circunstância. Um relatório técnico será elaborado e devidamente assinado pelos pesquisadores responsáveis do estudo e entregue uma cópia ao representante da comunidade, ao ministério público do Município de Simões Filho e ao Instituto do Meio Ambiente.

DECLARAÇÃO

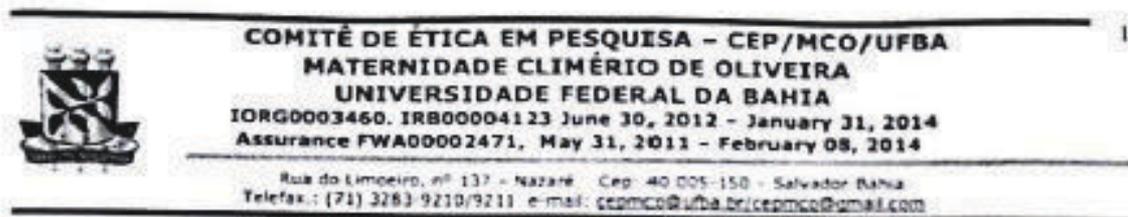
Antes de assinar este documento, eu fui suficientemente informado sobre o projeto de pesquisa: os objetivos, os procedimentos a serem realizados, os inconvenientes, os desconfortos e os benefícios que podem ocorrer quando eu estiver participando do estudo. Aceito participar voluntariamente desta pesquisa e sei que eu posso desistir da participação a qualquer momento.

_____	_____	_____
Nome do voluntário	Assinatura ou impressão digital	Data
_____	_____	_____
Nome do representante do voluntário	Assinatura	Data
_____	_____	_____
Pessoa que apresentou a pesquisa se não for o investigador principal	Assinatura	Data
_____	_____	_____
Nome do investigador principal	Assinatura	Data

1ª via para o Voluntário

2ª via para o Investigador principal

APÊNDICE C – Parecer do Comitê de Ética

**PARECER/RESOLUÇÃO N.º 027/2011**

Registro CEP: 021/11 (Este número, bem como o do Parecer acima, devem ser citados nas correspondências referentes a este projeto).

Título do Projeto: “Efeitos Neuropsicológicos e na Saúde da População de duas Comunidades Expostas a Metais Pesados”

Patrocínio/Financiamento: Patrocínio FAPESB, compatível.

Pesquisador Responsável: José Neander Silva Abreu, doutor, professor do Instituto de Psicologia da Universidade Federal da Bahia e outros “Curricula Vitae” anexos compatíveis.

Instituição: Universidade Federal da Bahia, Salvador/Bahia.

Área do Conhecimento: 4.00, Ciências da Saúde; 4.06, Saúde Coletiva; Nível NSA; Grupo III.

Objetivos: Geral: Avaliar as funções cognitivas de crianças em idade escolar e adultos e a associação com os níveis de manganês e chumbo no organismo na população das comunidades de Cotegipe e Santa Luzia, distritos litorâneos de Simões Filho, e propor medidas que contribuam para minimização do impacto na saúde humana e ambiental.

Objetivos Específicos. Avaliar efeitos neuropsicológicos na população infantil em idade escolar decorrente da exposição a metais (Mn, Pb), correlacionando-os com os biomarcadores. Verificar a correlação entre as medidas de qualidade de vida das famílias pesquisadas e o desempenho obtido na avaliação neuropsicológica de seus respectivos filhos. Avaliar a inteligência nas mães das crianças participantes. Avaliar aplicabilidade dos marcadores não invasivos (Mn no cabelo do escalpo e axilar e Mn na saliva) em adultos do sexo masculino. Avaliar o desempenho cognitivo nos adultos do sexo masculino e estudar sua associação com os níveis de Mn no organismo. Mensurar e comparar os níveis de cotinina urinária por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), metabólito da nicotina, para avaliar o grau de exposição ao cigarro e classificar os indivíduos quanto ao grau de exposição a fumaça do cigarro. Fazer um levantamento da dieta específica das famílias das crianças das duas comunidades. Estudar os demais fatores de risco associados com efeitos neuropsicológicos nas crianças, identificando os principais domínios cognitivos afetados. Estabelecer as diretrizes para um projeto de intervenção compensatória que vise suplantar as perdas no desenvolvimento cognitivo, através de uma melhor estimulação psicopedagógica. Desenvolver uma estreita articulação com o setor saúde e educação, de modo que os resultados do projeto sejam apresentados e discutidos, se possível em tempo real ao nível local, de modo a contribuir com ações pró-ativas de mitigação dos impactos socioambientais dos setores ambiental, saúde educação. Desenvolver uma abordagem integrada de saúde, ambiente e educação, a partir da abordagem participativa dos atores sociais locais.



COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/MCO/UFBA
 MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
 UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
 IORG0003460, IRB00004121 June 30, 2012 January 31, 2014
 Assurance FWA00002471, May 31, 2011 February 08, 2014

Rua do Limpério, nº 137 - Nazaré - Cep: 40.105-150 - Salvador Bahia
 Telef: (71) 3281-9210, 9211 e fax: 3281-9212
 e-mail: cepmco@ufba.br; cepmco@gmail.com

Sumário: O manganês faz parte dos elementos essenciais ao corpo humano, participando de funções relacionadas à formação de ossos e outros. Entretanto, altos níveis de manganês podem desencadear muitos problemas de saúde, sendo os mais importantes os que envolvem o sistema nervoso central, como as manifestações do manganismo, as quais se assemelham clinicamente ao Mal de Parkinson. Os principais acometidos pelo manganismo são trabalhadores expostos ocupacionalmente, sendo a via inalatória a principal forma de exposição ao manganês. Há um interesse crescente na avaliação da exposição de crianças ao manganês no ambiente, pois se sugere que o excesso de Mn pode interferir com desenvolvimento de funções cerebrais nas esferas cognitivas, motoras, memória e atenção. As comunidades de Cotegipe e Santa Luzia, distritos litorâneos de Simões Filho, estão expostas em diferentes intensidades a metais pesados. Estudos recentes mostraram que em Cotegipe as crianças e suas mães têm níveis elevados de manganês no organismo e estes estão associados com o baixo desempenho em testes de avaliação cognitiva. A comunidade de Santa Luzia por sua vez, apesar de situar-se 2 km mais distante da fonte de emissão de Mn, tem atividade econômica e hábitos alimentares que dependem diretamente da atividade pesqueira e marisqueira, podendo ser a dieta baseada em frutos do mar um importante aporte de metais como chumbo, cádmio entre outros.

Estudo de corte-transversal, descritivo formado por uma amostra de uma lista de alunos das escolas 50 crianças de 7 a 12 anos que frequentam as escolas da localidade. Os desempenhos das funções cognitivas serão obtidos através da aplicação de uma bateria ampla de testes neuropsicológicos (CPT, Subtestes da escala WISC-III e do NEPSY II) nas crianças em idade escolar. As mães das crianças também serão avaliadas segundo seu nível de inteligência através do Raven Matrizes Progressivas Coloridas e a qualidade de vida de sua família com o uso da escala SF-36. Serão feitas coletas de sangue (8 ml), cabelo, urina e fezes.

Critérios de Inclusão: Crianças escolares de 7 a 12 anos e suas mães e trabalhadores das comunidades de Cotegipe e Santa Luzia. **Crítérios de Exclusão:** não explicitados.

Análise de riscos: Riscos de coleta de informação de pacientes em questionários, sangue.

Retorno de benefícios para o sujeito e/ou para a comunidade: A comunidade pode se beneficiar com as informações coletadas, não há benefícios para os sujeitos.

Termo de Consentimento Livre e Pré-Esclarecido (TCLE): foram apresentados 3 TCLES (Crianças, Mães e homens). Utiliza termos simples para tal população. Contém justificativa, descreve os objetivos, procedimentos, descreve os riscos da coleta de sangue, benefícios estão esclarecidos. Está clara a participação voluntária e a retirada de dúvidas. A confidencialidade das informações colhidas e privacidade dos dados, durante e após o protocolo estão asseguradas. O endereço e telefone ou forma de contatar os investigadores estão descritos adequadamente. O Comitê de Ética em Pesquisa está citado.



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. IRB00004123 June 30, 2012 – January 31, 2014
Assurance FWA00002471, May 31, 2011 – February 08, 2014

3

Rua do Limoeiro, nº 137 – Nazaré Cep: 40.005-150 – Salvador-Bahia
Telefax.: (71) 3283-9210/9211 e-mail: cep@ufba.br/cep@ufba.br/cep@ufba.br

Comentários: O protocolo está bem argumentado, seus fins são éticos e o conhecimento advindo pode trazer benefícios à comunidade. Os objetivos são explícitos. **Protocolo Aprovado.**

Salvador, 5 de Agosto de 2011.


Professor, Doutor Eduardo Martins Netto
Coordenador – CEP/MCO/UFBA

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (ã) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução e nas “Recomendações Adicionais” apenas, **bem como a impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação**, (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).