



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SILVIA ELINE ALFAIA LIMA

**Biomonitoramento através da avaliação laboratorial de uma
população exposta a metais no Município de Santana, Amapá, Brasil**

Macapá
2018

SILVIA ELINE ALFAIA LIMA

**Biomonitoramento através da avaliação laboratorial de uma
população exposta a metais no Município de Santana, Amapá, Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Dr. Madson Ralide Fonse
Gomes

Co-orientador: Dra. Deyse de Souza Dantas

**Macapá
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

Bibliotecária: Thalita Ferreira (CRB2 – 1557)

616.0756

L732b Lima, Silvia Eline Alfaia

1.1.1. *Biomonitoramento através da avaliação laboratorial de uma população exposta a metais no Município de Santana - Amapá -Brasil / Silvia Eline Alfaia Lima ; orientador, Madson Ralide Fonseca Gomes; co-orientadora, Dayse de Sousa Dantas. – Macapá, 2018.*

54 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Avaliação laboratorial. 2. Biomonitoramento. 3. Riscos ambientais. 4. Metais - Análise - Santana / Amapá. I. Gomes, Madson Ralide Fonseca, orientador. II. Dantas, Dayse de Sousa, co-orientador. III. Fundação Universidade Federal do Amapá. IV. Título.

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Federal do Amapá**

BANCA EXAMINADORA

Aluno(a): Silvia Eline Alfaia Lima

Orientador(a): Dr. Madson Ralide Fonseca Gomes

Co-Orientador(a): Dra. Deyse de Souza Dantas



MADSON RALIDE FONSECA GOMES / Presidente

Professor Titular do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.



RAFAEL LIMA RESQUE / Membro Titular

Professor Titular do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.



SILVIA MARIA MATHES FAUSTINO / Membro Titular

Professor Titular do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.

Data: 16/04/2018

***Dedico este trabalho à Deus, a
minha família e aos moradores do Elesbão.***

AGRADECIMENTOS

Á Deus por todas as maravilhas concedidas a mim, sempre me orientando e abençoando;
À minha filha Luiza Alfaia que me acompanhou durante os estudos e sempre compreendeu quando minha ausência era necessária, filha eu te amo;
Ao meu esposo, Odirlei Moreira, companheiro, parceiro, incentivador e amigo, por me ajudar nos momentos de cansaço e não me deixar desistir, te amo;
À minha família, em especial meus pais e irmãos, pelo apoio, compreensão e carinho, amo vocês;
Ao meu querido orientador Profº Dr. Madson Ralide pela orientação e todo apoio durante as análises, brilhante professor, apaixonado pelo faz, terás minha admiração e gratidão sempre, obrigada por me adotar e abraçar o projeto com entusiasmo;
Às minhas queridas mestres Deyse Dantas e Érika Costa pelo incentivo, amizade, apoio e orientação acadêmica, sempre com palavras certas nos momentos difíceis;
Aos amigos do mestrado (PPGCF e PPGCS), pois foram fundamentais com seus conhecimentos, suas idéias, apoio e amizade nesses 2 anos;
Ao LAAB/UNIFAP na pessoa do professor Dr. Roberto Messias e o técnico Franck que foram fundamentais na análise de metais na água;
Aos Laboratórios de Análises Clínicas II/UNIFAP e ao LAC/HCAL pelo espaço cedido para realização das análises laboratoriais;
Ao INCT pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa;
Aos acadêmicos de Farmácia/Enfermagem pela ajuda durante o preenchimento de questionários/ TCLE e coleta de material biológico para a realização desta pesquisa;
Aos moradores do Elesbão/Santana-AP e a UBS/Elesbão na pessoa do diretor Moisés, por permitirem o desenvolvimento da pesquisa;
À coordenação do PPGCF, em especial ao Edson, por estar sempre disponível nas orientações, esclarecimentos e serviços necessários no setor;
A todos aqueles que me incentivaram e contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!!!!

*“Bem –
aventurado o homem que acha sabedoria e o homem que adquire conhecimento.”*

(Provérbios 3:13)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	6
2.1	GERAL	6
2.2	ESPECÍFICOS	6
3	MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1	TIPO DE PESQUISA	7
3.2	APROVAÇÃO DA PESQUISA	7
3.3	ÁREA DE ESTUDO	7
3.4	COLETA DE ÁGUA E ANÁLISE DE METAIS	9
3.5	AMOSTRAGEM	10
3.6	COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	10
3.7	AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA e BIOQUÍMICA	11
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	12
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1	ANÁLISE DE METAIS NA ÁGUA	13
4.2	ANÁLISE SÓCIO ECONÔMICA	16
4.3	ANÁLISE BIOQUÍMICA	18
4.4	ANÁLISE HEMATOLÓGICA	22
4.4.1	Eritrograma	22
4.4.2	Leucograma	22
4.4.3	Plaquetograma	24
4.4.4	Morfologia Celular	25
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
	REFERÊNCIAS	33
	ANEXOS APÊNDICES	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados dos teores médios de elementos traços (mg/L) nas águas de consumo em 6 diferentes pontos do bairro Elesbão e entorno da área industrial, no período de outubro/2017.....	13
Tabela 2 - Dados referentes ao questionário.....	16
Tabela 3 - Dados dos valores obtidos nos testes bioquímicos.....	18
Tabela 4 - Dados dos valores obtidos no hemograma – hemácias e índices hematimétricos.....	23
Tabela 5 - Dados dos valores obtidos no hemograma – leucograma.....	24
Tabela 6 - Dados dos valores obtidos no hemograma – plaquetograma.....	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Localização do Bairro Elesbão, no município de Santana, Estado do Amapá.....	8
Figura 2 -	Usina de Pelotas/Sínter, no município de Santana, Estado do Amapá.....	8
Figura 3 -	Análise de metais na água. A) Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (F-AAS), modelo AA-6300 e B) As amostras de água coletados do bairro Elesbão, no município de Santana, Estado do Amapá.....	9
Figura 4 -	Coleta de amostras biológicas do grupo exposto e do grupo controle/não exposto.....	11
Figura 5 -	Dacriócito – grupo exposto	28
Figura 6 -	Equinócito – grupo exposto	28
Figura 7 -	Macroplaqueta – grupo exposto	29
Figura 8 -	Micronúcleo – grupo exposto	29
Figura 9 -	Neutrófilo hiposegmentado – grupo exposto	30
Figura 10 -	Neutrófilo normal – grupo não exposto	31

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	Espectrofotometro de absorção atômica
ALT	Alanina aminotransferase
APHA	American public health association
AST	Aspartato aminotransferase
Cd	Cádmio
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CONAMA	Conselho nacional do meio ambiente
Cr	Cromo
CREA	Creatinina
Cu	Cobre
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FER	Ferro – dosagem bioquímica
Fe	Ferro – elemento químico
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCT	Hematócrito
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICOMI	Indústria de comércio e minérios
IEC	Instituto Evandro Chagas
IST	Índice de saturação de Transferrina
LAAB	Laboratório de absorção atômica
MN	Micronúcleos
Mn	Manganês
Pb	Chumbo
PDW	Platelet distribution width
ppm	Parte por milhão
RDW	Red cell distribution width
TGO	Transaminase glutâmica oxalacética
TGP	Transaminase glutâmica pirúvica

URE	Uréia
VCM	Volume corpuscular médio
VPM	Volume médio de plaquetas

Biomonitoramento através da avaliação laboratorial de uma população exposta a metais no Município de Santana, Amapá, Brasil

Introdução: A exploração mineral na Amazônia, determinou impactos para o meio ambiente e para as populações expostas a diferentes agentes no processo de produção. A extração e beneficiamento de minério desenvolvido no Estado do Amapá deixou danos ambientais e problemas que influenciam na saúde da população, como a contaminação por metais. Estudos demonstram que algumas formas de metais são tóxicas, causando problemas neurológicos e genéticos. O presente estudo considera a avaliação toxicológica fundamental na identificação de possíveis danos à saúde. **Objetivo:** o objetivo desse estudo é investigar efeitos tóxicos através da análise laboratorial em um grupo populacional do Bairro Elesbão no município de Santana/AP expostos a resíduos de minérios e metais. **Material e Métodos:** Desta forma, avaliou-se por espectrofotômetro a quantidade de metais nas águas da região do Elesbão e realizou-se exames hematológicos e bioquímicos para avaliação laboratorial. O Teste t pareado, foi aplicado para avaliação estatística com significância de 5% ($p < 0.05$). **Resultados e Discussão:** Concluiu-se que há ferro e manganês em concentrações elevadas nas águas da região. Os exames hematológicos e bioquímicos apresentaram alterações estatisticamente significantes. A análise microscópica das células detectou diferenças significativas em sua morfologia. **Conclusão:** Este estudo demonstrou que é importante investigar as fontes de exposição a metais e tomar medidas preventivas para eliminar ou minimizar os riscos dos efeitos adversos relacionados à exposição excessiva a múltiplos metais.

Palavras-Chave: Amazônia; Laboratorial; Metais; Tóxico.

Biomonitoration through the laboratory evaluation of an exposed population to metals in the Municipality of Santana, Amapá, Brazil.

Introduction: The mineral exploration in the Amazon, has determined impacts for the environment and for the populations exposed to different agents in the production process. The extraction and beneficiation of ore developed in the state of Amapá left the environmental damages and problems that influence the health of the population, such as contamination by metals. Studies have shown that some forms of metals are toxic, causing neurological and genetic problems. The present study considers the toxicological evaluation fundamental in the identification of possible damages to the health. **Objectives:** the objective of this study is to investigate toxic effects through laboratory analysis in a population group of the Elesbão county in the municipality of Santana / AP exposed to residues of minerals and metals. **Methodology:** In this way, the amount of metals in the waters of the Elesbão region was evaluated by spectrophotometer and hematological and biochemical tests were performed for laboratory evaluation. The paired t-test was applied for statistical evaluation with a significance of 5% ($p < 0.05$). **Results and discussion:** It was concluded that iron and manganese are present in high concentrations in the waters of the region. Haematological and biochemical exams presented statistically significant alterations. Microscopic analysis of the cells detected significant differences in their morphology. **Conclusions:** This study demonstrated that it is important to investigate sources of metal exposure and to take preventive measures to eliminate or minimize the risks of adverse effects related to excessive exposure to multiple metals.

Key words: Amazon; Laboratory; Metals; Toxic

A preocupação com o desenvolvimento econômico e industrial e a despreocupação com os seus impactos negativos sobre o meio ambiente ao longo de vários séculos podem ser apresentados como dois dos importantes fatores para o hoje elevado índice de degradação dos recursos naturais, assim como para a gradativa redução dos níveis de saúde e qualidade de vida das pessoas. Durante muitos anos que o homem descarta resíduos no solo, na água ou na atmosfera, e esse quantitativo tem aumentado expressivamente. Essas ações causadas por moradores ou empresas locais permitem que diferentes grupos de produtos químicos sejam liberados no ambiente, gerando estresse ambiental e problemas de saúde que afetarão atuais e futuras gerações de seres vivos, incluindo a espécie humana. (FACUNDES, 2011).

Muitas tragédias ambientais na história do Brasil começou a ser desenhada muito antes do rompimento da barragem do fundão em Mariana/MG, ocorrida no ano de 2015 e a contaminação por metais nos rios de Barcarena, Estado do Pará em 2016 ambas causadas por mineradoras. Sua gênese ocorreu por força de uma legislação opaca e ultrapassada, uma fiscalização deficitária e do absoluto descaso das mineradoras com o meio ambiente e vidas humanas. O rompimento da barragem de fundão gerou uma onda de lama residual devastadora e poluente. A contaminação da bacia hidrográfica do rio Doce pelos rejeitos elevou consideravelmente os níveis de turbidez da água, tornando-a imprópria tanto para o consumo humano como para a agropecuária. Com os danos à ictiofauna, os pescadores perderam seu principal meio de subsistência. Diversas localidades que dependiam do turismo também contabilizaram amargos prejuízos (LOPES, 2016).

O Instituto Evandro Chagas (IEC), através de nota técnica, apresentou resultados que permitiram constatar alterações na qualidade das águas superficiais do rio Murucupi em desacordo com a legislação brasileira e níveis regionais de background, situação que caracterizaram impactos ambientais e colocam em risco a saúde das comunidades ribeirinhas que residem nas suas margens, o IEC foi novamente acionado para dar sequencia nas ações de avaliação na qualidade das águas superficiais no rio Murucupi e estendendo estas para outros rios da região de

Barcarena e Abaetetuba que também pudessem estar sendo afetados pelos impactos ambientais outrora relatados (LIMA et al., 2018).

Na região Amazônica, os últimos cinquenta anos foram marcados pela implementação de empreendimentos produtivos adotados através de Planos e Políticas de Desenvolvimento do Governo Federal, com destaque para os grandes projetos de mineração. A exploração mineral de manganês (Mn) no município de Serra do Navio e Santana garantiu o primeiro e o mais durável empreendimento mineral de grande escala e intensivo na região amazônica brasileira. Localizada no Estado do Amapá que situa-se no extremo norte do país e ocupa uma área de 140.276 Km², que corresponde a 1,6% do território brasileiro e 3,6% da Região Norte, fazendo fronteira com o Estado do Pará, o Suriname e a Guiana Francesa (SANTOS et al., 2003).

A exploração mineral na Amazônia, deteminou impactos para o meio ambiente e para as populações expostas a diferentes agentes no processo de produção. Nesse contexto, aborda-se o projeto de extração e beneficiamento de minério de Mn desenvolvido por uma empresa de mineração ao longo de aproximadamente 40 anos. A exploração de minério é um fator preocupante e no Estado do Amapá não é diferente, pois a exploração de Mn no município de Serra do Navio desse Estado deixou além dos danos ambientais, outros aspectos relevantes que influenciam na saúde da população, como por exemplo, a contaminação por metais pesados. Destaca-se assim o aperfeiçoamento das técnicas de exploração comercial do minério e a construção de uma usina de pelotização e outra de sintetização na área do porto da antiga empresa exploradora de minérios no município de Santana. Após encerramento das atividades da empresa que atuou por 40 anos, a área industrial no porto de Santana passou a ser novamente utilizada, mas agora para o depósito do minério de ferro pela empresa sucessora, tais atividades possuem grande capacidade de contaminação do solo, água e ar por metais e resíduos de minérios, porém esta área hoje compreende aos seus arredores bairros habitados, entre eles o Elesbão (SANTOS et al., 2003; SCARPELLI , 2003).

As formas de contaminação por agentes químicos, onde inserem-se os agentes tóxicos, são variadas, indo desde a simples exposição à poluição atmosférica, principalmente por material particulado nas grandes cidades, até a ingestão de água e de alimentos contaminados por produtos químicos. Dentre as

formas mais frequentes de contaminação humana por poluentes, com incidência principalmente sobre os trabalhadores, estão a exposição aos seguintes agentes químicos: asbesto, cádmio, cromo, chumbo, poeiras, sílica, níquel, manganês, mercúrio, entre outros. Os metais podem ser introduzidos nos ecossistemas de maneira natural ou artificial. Naturalmente, por meio do aporte atmosférico e chuvas, pela liberação e transporte a partir da rocha matriz ou outros compartimentos do solo onde estão naturalmente. De modo artificial, por fontes antropogênicas de diversos ramos: esgoto *in natura* de zonas urbanas, efluentes de indústrias, atividades agrícolas, e rejeitos de áreas de mineração e garimpos (FACUNDES, 2011; LIMA et al., 2015).

Estudos têm demonstrado que algumas formas de metais são tóxicas, causando problemas genéticos, porém uma avaliação mais intrínseca deve ser realizada, levando em consideração fatores como a exposição e forma de contaminação, pois a presença de metais em fluidos biológicos não caracteriza por si só um problema de saúde. Para avaliar o possível impacto da exposição sobre a saúde, é essencial identificar os efeitos da exposição aos agentes tóxicos, reconhecer as condições de exposição que geram danos e monitorar indivíduos que possam estar sofrendo exposição excessiva, com o objetivo de prevenir consequências adversas sobre a população. Pois, a toxicidade causada por misturas complexas de substâncias que podem causar impacto no ecossistema e na saúde humana ocorrem a longo prazo. As concentrações de metais em amostras biológicas como sangue, urina e cabelo, constituem biomarcadores de exposição utilizados largamente quando se trata de exposição ambiental ou ocupacional a metais. No entanto, a escolha da matriz biológica depende de diversos fatores, tais como a toxicocinética, o procedimento de coleta, considerando a conveniência e se a coleta é invasiva ou não invasiva. Sendo assim, a seleção apropriada da amostra e a quantificação dos biomarcadores constituem critérios de extrema importância na prevenção de patologias e tomada de medidas frente à exposição a metais (RODRIGUES et al., 2008; KLAASSEN ; WATKINS, 2012).

Os efeitos que um agente químico ou físico exerce sobre o organismo também estão relacionados ao grau de exposição a que o indivíduo está sujeito. Assim, uma única dose de uma substância pode causar uma doença reversível, danos permanentes ou morte. Nestes casos, a causa do dano geralmente é fácil de ser detectada. Exposições baixas, ocorridas durante várias semanas ou meses,

podem produzir efeitos subagudos em curto prazo, assim como exposições sucessivas a baixas doses podem resultar em efeitos crônicos em longo prazo, difíceis de serem diagnosticados. A concentração de metais pesados na coluna d'água pode ser relativamente baixa, mas a longo prazo pode aumentar a concentração nos sedimentos como resultado do acúmulo de poluentes (RIBEIRO, 2012).

O biomonitoramento de populações expostas a riscos ambientais tem acontecido nas mais diversas áreas. O uso de metodologias laboratoriais e genéticas para monitoramento de humanos expostos a potenciais mutagênicos e carcinogênicos tem sido um eficiente sistema de advertência para patologias. Os resultados mostram desde a ausência de risco para a população avaliada até a forte correlação entre a exposição ao agente químico e a maior incidência de uma determinada doença, incluindo alterações genéticas e câncer. O objetivo fundamental dos estudos de biomonitoramento é então a identificação de problemas de saúde mediante a definição da causa ambiental que a origina (PAULA, 2010).

Os indicadores biológicos ou biomarcadores são valores de referência considerados como guias para avaliação de risco potencial à saúde dos indivíduos (trabalhadores ou população em geral) expostos às substâncias químicas. Entre os exames necessários a investigação das intoxicações nesse estudo, ressalta-se o hemograma, corresponde a um conjunto de testes laboratoriais que estabelece os aspectos quantitativos e qualitativos dos eritrócitos, leucócitos e das plaquetas. A avaliação bioquímica de pessoas expostas a contaminantes ambientais, também realizada através de dosagens como a uréia (URE), creatinina (CREA), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), pois esses analitos são de grande importância pela possibilidade de detecção de alterações patológicas quando encontradas em valores elevados ou diminuídos no sangue. Pois, enquanto a uréia e a creatinina são metabolitos nitrogenados não proteicos capazes de ajudar na avaliação renal, as enzimas ALT e AST são encontradas principalmente no fígado, podendo avaliar hepatopatias, problemas intestinais e demais atividades digestivas (PEREIRA et al., 2013; COSTA, 2014).

O presente estudo considera a avaliação toxicológica fundamental na identificação de danos a saúde. Desta forma, este estudo, através da análise de metais na água e exames laboratoriais, foi fundamental para investigar as suspeitas da influência de metais pesados em possíveis alterações toxicológicas e genéticas

em moradores do bairro Elesbão, localizado em área de mineração no município de Santana, garantindo assim uma referência para estudos genotóxicos no local que a muitos anos armazena minério a céu aberto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar efeitos da exposição a metais e a resíduos de minérios através de análise laboratorial em um grupo populacional do Bairro Elesbão no município de Santana/AP.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar metais e analisar a concentração de pesados na água utilizada pelos moradores do bairro Elesbão;
- b) Caracterizar a influência dos hábitos de vida dos moradores através de questionário sócio-demográfico;
- c) Avaliar alterações hematológicas decorrentes da exposição aos metais presentes na água através da análise do hemograma e análise citológica;
- d) Avaliar alterações bioquímicas decorrentes da exposição aos metais presentes na água através dos testes de uréia, creatinina, ALT e AST, além da análise do metabolismo do ferro através do ferro sérico e índice de saturação de transferrina;
- e) Identificar alterações morfológicas nas células sanguíneas;

3 MATERIAL E MÉTODO(S)

3.1 TIPO DE PESQUISA

Este estudo define-se como retrospectivo de caso – controle, onde também caracteriza um modelo transversal quantitativo de investigação, delineado de forma a permitir que se obtenha uma avaliação clínica, epidemiológica e laboratorial dos moradores do Elesbão expostos a metais e resíduos de minérios.

3.2 APROVAÇÃO DA PESQUISA

A presente pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS, sob o número de protocolo nº 2.278.622 em 15 de setembro de 2017.

3.3 ÁREA DE ESTUDO

O Elesbão, pertence ao Município de Santana, Estado do Amapá. Localiza-se à margem direita do Rio Amazonas, distante aproximadamente doze quilômetros da capital Macapá (Figura 1). O Município de Santana é banhado pelo Rio Matapi, que deságua em frente à Ilha de Santana, próximo à foz do Rio Amazonas. Há quatro igarapés (Elesbão 1, Elesbão 2, Elesbão Grande e Matapi-Mirim), que deságuam nas proximidades do Porto de Santana, na área que compreende a Vila do Elesbão, comunidade cujas principais atividades econômicas são a coleta do açaí, a olaria e a pesca.

O estudo foi realizado com indivíduos voluntários residentes no bairro Elesbão, região próxima a uma Mineradora ativa localizada no município de Santana (Figura 2), com estimativa de 101.262 habitantes (IBGE, 2010), assim fizeram parte do grupo exposto, e o grupo controle será composto por pessoas livre de exposição a metais pesados que residem no município de Macapá.

Figura 1 - Localização do Bairro Elesbão, no município de Santana, Estado do Amapá.



Fonte: Google maps, 2017.

Figura 2 - Usina de Pelotas/Sínter, no município de Santana, Estado do Amapá.



Fonte: Scarpelli, 2003.

3.4 COLETA DE ÁGUA E ANÁLISE DE METAIS

As amostras de água foram coletadas em mesma época, outubro/2017 em recipientes plásticos de 1000 mL , devidamente esterilizados, identificados, retiradas de poços, torneira, igarapés e rios próximos (Figura 3). As amostras foram armazenadas em caixa térmica com gelo durante o período amostral e no transporte para o laboratório, sendo armazenadas em geladeira, permanecendo sob resfriamento até o preparo para análises. Os preparos seguiram os padrões estabelecidos pela APHA (2012). O preparo das amostras de água foi realizado no Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção (LAAB) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP).

Figura 3 – Análise de metais na água. **A)** Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (F-AAS), modelo AA-6300 e **B)** As amostras de água coletados do bairro Elesbão, no município de Santana, Estado do Amapá.



Fotos: própria autora, 2017.

A leitura das concentrações dos metais pesados Cd, Cr, Cu, Fe, Pb e Mn nas amostras de água foram realizadas no Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (F-AAS), modelo AA-6300 (Figura 3), do Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção (LAAB) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). O Espectrofotômetro de Absorção Atômica (AAS) é um dos equipamentos mais utilizados para análise de metais em níveis de parte por milhão (ppm), segundo Pedreira Filho et al. (2009).

Para utilização do F-AAS foram geradas curvas de calibração para cada metal analisado, a partir de soluções padrões certificadas para AAS fornecido pelo Instituto Nacional para Ciência e Tecnologia dos Estados Unidos da América (NIST-USA).

Os padrões foram passados no equipamento e as curvas geradas com os resultados mensurados dos diferentes padrões. Obtendo-se as curvas para cada metal, as amostras foram analisadas em triplicatas, sendo o resultado expresso em ppm (partes por milhão). Todos os processos de validação foram realizados conforme as normas estabelecidas pelo fabricante do equipamento.

3.5 AMOSTRAGEM

Participaram da pesquisa 100 indivíduos, divididos em dois grupos definidos por grupo não exposto (50) que são voluntários residentes na cidade de Macapá/AP, fora da região de risco e grupo exposto a contaminação (50) residentes no bairro Elesbão por no mínimo 10 anos. Todos os participantes com idade entre 18 e 59 anos. Sendo que devido alguns problemas no preenchimento do questionário e exclusão de amostras, o trabalho foi realizado com 45 voluntários de cada grupo. A pesquisa teve início após liberação do parecer do CEP: CAAE 62686516.9.0000.0003 (15/09/2017) indicado pela Plataforma Brasil.

Primeiramente foi realizado uma reunião para apresentação do projeto a comunidade, na Unidade Básica de Saúde (UBS) do bairro, e onde foi esclarecido qualquer questionamento e posteriormente foi marcado o dia para coleta de material biológico que aconteceu no dia 30/11/2017, e assim ocorreu também a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, apêndice A e o preenchimento do questionário conforme o apêndice B.

3.6 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO

O grupo exposto foi reunido em uma Unidade Básica de Saúde localizada (autorização via ofício) no Bairro Elesbão, onde foi realizado a coleta. O grupo controle/não exposto foi reunido no laboratório do ANACLIN (Laboratório de Análises Clínicas 2). O procedimento foi iniciado com a coleta de sangue por punção venosa diretamente em tubo com EDTA e GEL (Figura 4).

Figura 4 – Coleta de amostras biológicas do grupo exposto e do grupo controle/não exposto.



Fotos: própria autora, 2017.

3.7 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA

Para o estudo hematológico, amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo anticoagulante (EDTA). Foram feitas lâminas em esfregaço, coradas pelo kit panótico. O hemograma foi realizado por um analisador automático BC6800 Mindray utilizando os kits de reagentes mindray. Diferentes parâmetros hematológicos foram avaliados: hemoglobina (Hb), hematócrito (HCT), índices hematimétricos Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), Red Cell Distribution Width (RDW), leucócitos totais e contagem diferencial de neutrófilos e linfócitos, plaquetas e parâmetros plaquetários como volume médio de plaquetas (VPM) e o PDW (Platelet Distribution Width).

Para a análise bioquímica as amostras de sangue foram coletadas em tubos com gel sem anticoagulante. Após a coagulação do sangue, este foi submetido a centrifugação para retirada do soro que foram utilizados para as análises bioquímicas em um analisador automático BS800 e kits de reagentes labtest. As amostras foram utilizadas para dosagens séricas de uréia (URE) e creatinina (CREA) para avaliação renal, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) para avaliação hepática, e ainda ferro sérico (FER) e índice de saturação de transferrina (IST) para analisar a concentração.

A análise morfológica foi realizada através de lâminas (esfregaço) coradas pelo kit panótico e analisadas no microscópio óptico 100X.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos nas diversas análises estão expressos por média \pm desvio padrão da média ($X \pm D.P.M$) de cada grupo experimental. Para comparar os dados dos grupos avaliados, aplicou-se o Teste t pareado, com significância de 5% ($p < 0.05$). Foram analisados pelo pacote estatístico GraphPad Prism® (versão 5.03).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE DE METAIS NA ÁGUA

Os resultados referentes aos metais encontrados nas águas analisadas no Elesbão são apresentados na Tabela 1 e são comparados com os valores máximos permitidos da Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde. As análises dos teores médios de Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu) e Chumbo (Pb) comparados aos respectivos valores máximos permitidos, em sua maioria não demonstraram nenhuma alteração significativa, porém o ferro (Fe) e o manganês (Mn) apresentaram-se acima dos valores máximos permitidos.

Tabela 1 - Resultados dos teores médios de elementos traços (mg/L) nas águas de consumo em 6 diferentes pontos do bairro Elesbão e entorno da área industrial, no período de outubro/2017.

ELEMENTOS	AMOSTRA	CONC. (ppm)	MÉDIA (%)	DP	VMP* (mg/L)
Cd	A	-0,0913	20,26	0,0005	0,005
	B	-0,0947	15,12	0,0005	
	C	-0,0906	59,77	0,0014	
	D	-0,0917	23,08	0,0006	
	E	-0,0967	50,4	0,0021	
	F	-0,091	41,16	0,001	
Cu	A	-0,116	44,42	0,0008	2,000
	B	-0,1053	7,69	0,0002	
	C	-0,0933	29	0,001	
	D	-0,1333	210,75	0,0011	
	E	-0,124	115,33	0,0014	
	F	-0,1213	63,09	0,0009	
Fe	A	0,9262	35	0,0133	0,300
	B	1,1178	4,03	0,0019	
	C	1,2574	15,18	0,0079	
	D	0,4554	114,12	0,0207	
	E	0,3347	86,8	0,0113	
	F	1,8748	14,55	0,0114	

	F				
Mn	A	-0,0492	102,32	0,0016	0,100
	B	-0,0954	71,39	0,0022	
	C	-0,08	36,88	0,001	
	D	-0,0646	158,51	0,0033	
	E	-0,1046	25,64	0,0009	
	F	0,0523	80,57	0,0013	
Pb	A	-0,5563	23,52	0,0006	0,100
	B	-0,3873	61,99	0,0006	
	C	-0,3873	79,7	0,0012	
	D	-0,2324	118,42	0,0005	
	E	-0,3451	26,06	0,0003	
	F	-0,2746	300,12	0,002	

* Os valores estão expressos em média \pm D.P (n=6); (Conc./ppm) nas amostras A (água da CAESA); B (água do Rio Amazonas); C (água do Igarapé Elesbão); D (água de poço 1); E (água de poço 2); F (água de Igarapé próximo a empresa).

*Valor máximo permitido para águas de consumo humano (Portaria 518/2004 MS); CONAMA - resolução nº 357, de 17 de março de 2005;

A principal rota de exposição ambiental aos metais, que representa risco à saúde da população, se dá através do consumo de águas contaminadas de forma contínua e por longos períodos de tempo. A influência de fatores ambientais na distribuição geográfica de problemas na saúde humana tem promovido a interação entre as diversas áreas do conhecimento para avaliar as origens e efeitos de elementos traços como, por exemplo, o arsênio, chumbo, manganês (RIM; KIM, 2015). Nesse sentido, o acompanhamento das águas de consumo no município de Santana, Estado do Amapá, avaliando-se teores de metal total, representa ação importante de vigilância ambiental em saúde, considerando-se a existência de sítios contaminados em áreas próximas. Pois, diversos estudos têm correlacionado concentrações elevadas de metais na água com altas concentrações em amostras biológicas e com danos neurológicos (SANTOS et al., 2003; KHAN et al., 2012).

No ano de 2002 foi concluído um estudo iniciado no ano anterior, envolvendo análise clínico-epidemiológica laboratorial de pessoas residentes na Vila do Elesbão e bairros próximos à área industrial da ICOMI. Foi um trabalho realizado pelo Instituto Evandro Chagas (IEC), órgão vinculado à Fundação Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, a pedido do Governo do Estado do Amapá. O estudo constatou que 67 pessoas apresentaram teores de arsênio no sangue acima de valores citados

na literatura internacional, ou seja, superior a dez partes por bilhão (10 ppb), e que tais casos seriam reinvestigados, visando determinar as concentrações de arsênio orgânico e inorgânico (especação do arsênio), para se concluir a avaliação dos indivíduos pesquisados (SANTOS et al., 2003; SCARPELLI, 2003). Segundo Lima et al. (2007), informa que o estudo realizado pelo IEC que constata a existência de elevados teores de arsênio na área industrial, refletiu da alta presença de arsênio na água, nos sedimentos de fundo e no material particulado suspenso nos igarapés Elesbão 1 e 2, que atravessam a Vila do Elesbão e deságuam no Rio Amazonas.

Neste trabalho não foi possível fazer a análise de arsênio na água. Mas, presença de Mn em águas contaminadas pode refletir os resíduos de minérios lançados a partir de práticas minerais realizadas na empresa local. Portanto, nossos resultados reforçam a importância da análise, pois há potencial efeito adverso sobre o sistema nervoso central gerado pela exposição a concentrações elevadas de Mn, especialmente através da água (MUDGAL et al., 2010). No organismo, o Mn apresenta a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica podendo se acumular no cérebro. O aumento de Mn no cérebro pode causar injúria neuronal, podendo resultar na diminuição no número de neurônios dopaminérgicos. Elevadas concentrações de Mn no cabelo de crianças têm sido relacionadas a desordens cognitivas (ATSDR, 2012; MORA et al., 2014).

Correlações negativas também foram observadas entre os níveis de Fe. Ainda existem controvérsias quanto aos potenciais efeitos da suplementação com ferro na infância (LOZOFF et al., 2012; LOW et al., 2013). Porém, sabe-se que, quando presente em altas concentrações, esse elemento pode acumular-se no cérebro, além de estar relacionado com o desencadeamento de doenças neurodegenerativas. Os níveis de Fe no sangue do grupo exposto também foram correlacionados positivamente com os níveis de Fe na água, sugerindo esta como uma provável fonte de exposição (SCHROEDER et al., 2013).

Além dos danos neurológicos, a toxicidade induzida pelos metais pode causar danos ao DNA, danos renais, distúrbios sobre a biossíntese do grupo heme da hemoglobina, entre outros. Portanto, a indestrutibilidade adicionada à bioacumulação dos metais contribui para o aumento da preocupação relacionada aos efeitos tóxicos provocados por esses xenobióticos (KLAASSEN; WATKINS, 2012). A exposição ambiental a metais ocorre a partir de diversas fontes, sendo a água e os alimentos as fontes mais comuns de exposição.

Um fator importante a ser destacado nesta pesquisa, envolvendo a saúde e a qualidade de vida dos moradores do Elesbão e adjacências, está na qualidade da água utilizada para o consumo. Apesar de existir na comunidade uma pequena subestação de captação e tratamento de água, operada pela Companhia de Água e Esgoto do Estado do Amapá (CAESA), o tratamento realizado aparenta ser deficiente e apresentou concentrações de Fe acima do permitido para consumo humano, sendo que a retirada da água ocorreu diretamente da subestação.

4.2 ANÁLISE SÓCIO ECONÔMICA

As principais características da população estudada estão resumidas na Tabela 2. A média da idade dos dois grupos foram significativamente diferente, o grupo exposto apresentou mais voluntários com idade acima de 45 anos, já o grupo não exposto apresentou população mais jovem com no máximo 25 anos. No grupo exposto o gênero foi bem dividido entre homens e mulheres, porém o grupo não exposto apresentou uma população mais feminina. A maioria da população do grupo exposto reside no Elesbão a mais de 10 anos, e todos do grupo controle são residentes da cidade de Macapá.

Quanto ao estilo de vida da população estudada, nos dois grupos mais da metade não teve ou não tem mais contato com o tabagismo, porém mais da metade da população não exposta consome bebida alcoólica regularmente e a maioria não usa nenhum tipo de medicação. O número de pessoas que trabalham estão mais presente no grupo exposto e respectivamente a exposição a substâncias químicas esteve mais presente neste grupo. Doenças genéticas e câncer encontram-se praticamente na mesma proporção nos expostos e não expostos, porém o grau de parentesco que apresenta alguma doença ou mutação é bem diferenciado.

Tabela 2 - Dados Sócio - econômico referentes ao do questionário.

Características	EXPOSTO (n=45)	NÃO EXPOSTO (n=45)
Idade		
18 – 25	24% (n=11)	70% (n= 31)
26 – 35	24% (n=11)	20% (n= 9)

	36 – 45	22% (n=10)	6% (n= 3)
	46 – 60	30% (n=13)	4% (n= 2)
Sexo			
	Masculino	49% (n=22)	33% (n= 15)
	Feminino	51% (n=23)	67% (n= 30)
Tempo de moradia no Elesbão			
	Mais de 5 anos	16% (n= 7)	XXX
	Mais de 10 anos	84% (n=38)	XXX
Raça/ cor			
	Negro	8% (n= 4)	16% (n= 7)
	Branco	12% (n= 5)	42% (n= 19)
	Pardo	80% (n= 36)	42% (n= 19)
Trabalha			
	Sim	70% (n= 32)	10% (n= 4)
	Não	30% (n= 13)	90% (n= 41)
Exposição a substância químicas			
	Sim	57% (n= 26)	26% (n= 12)
	Não	43% (n= 19)	74% (n= 33)
Uso de medicação			
	Sim	40% (n= 18)	14% (n= 6)
	Não	60% (n= 27)	86% (n= 39)
Consumo de bebida alcoólica			
	Sim	52% (n= 23)	46% (n= 21)
	Não	48% (n= 22)	54% (n= 24)
Doenças genéticas na família			
	Sim	18% (n=8)	22% (n= 10)
	Não	82%(n= 37)	78% (n= 35)
Câncer na família			
	Sim	34% (n= 15)	42,5% (n=19)
	Não	66% (n= 30)	57,2% (n= 26)

(%)* Resultados expressos em percentagem estão arredondados para +/-

Um estudo realizado por Facundes (2011) relata que problemas de saúde como diabetes, coceiras e manchas pelo corpo, epilepsia, fortes dores de cabeça, problemas respiratórios e nos olhos, além de queda de cabelo, foram bem presentes nos depoimentos de diversas pessoas que residem no Elesbão. Descreve também, que um trabalho beneficente com aproximadamente 120 crianças na Vila do Elesbão, fazendo visitas nas residências, afirma ter observado um índice elevado de problemas de vista nessas crianças, com destaque para estrabismo. Observou também a existência de diversas crianças com déficit de aprendizagem, demora para começar a andar e problemas respiratórios já nos primeiros dias de vida. Esses problemas de saúde também coincidem com os efeitos da exposição humana ao arsênio descritos por (SILVA et al., 2014), notadamente no que se refere a problemas respiratórios e nos olhos, assim como os distúrbios neurológicos.

4.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS DOS TESTES BIOQUÍMICOS

A avaliação dos parâmetros bioquímicos do grupo exposto e não exposto evidenciou significância ($p=0,0419$) para o ALT no grupo feminino, mesmo estando nos parâmetros de normalidade do valor de referência. Entretanto, não foi encontrada significância estatística para AST, URE, CREA, FER, e IST. Mas, 10% dos indivíduos deste grupo apresentaram valores alterados no AST e 25% com alterações no ALT, e o grupo não exposto apenas 6% dos indivíduos possuem alterações nas enzimas ALT. A transaminase AST, em geral, é menos específica para se afirmar que existe uma doença hepática já que também se encontra no músculo cardíaco, nos ossos, rins, cérebro, pâncreas, pulmões, leucócitos e eritrócitos. A ALT, em geral, é mais específica do fígado. Entre os fatores que contribuem para o aumento das transaminases estão o abuso de bebidas alcoólicas, uso de medicamentos hepatotóxicos, imunossupressão, hepatopatia prévia, enfermidade cardíaca (McPHERSON; PINCUS, 2012).

Os biomarcadores bioquímicos são importantes ferramentas utilizadas nos estudos epidemiológicos, buscando estabelecer uma relação entre a exposição aos agentes químicos e os efeitos na saúde dos indivíduos expostos. A exposição a metais é conhecida por produzir uma variedade de alterações bioquímicas, a qual pode ser responsável por efeitos adversos em estudos experimentais com humanos.

Foram avaliados as enzimas AST, ALT, uréia, creatinina, ferro sérico e índice de saturação de transferrina. A avaliação da atividade enzimática, além de demonstrar significado clínico ou toxicológico próprio, pode estar associada a um efeito ou uma disfunção do sistema biológico (RODRIGUES, 2011; COSTA, 2014).

Tabela 3 - Dados dos valores obtidos nos testes bioquímicos.

ELEMENTOS	AMOSTRA	Valor Ref.*	EXPOSTO (n=45)		NÃO EXPOSTO (n=45)	
			MEDIA	DP	MEDIA	DP
AST/TGO (U/L)	M	Até 42	31,4	20,28	28,25	8,09
	F		27,46	13,21	22,30	5,14 (NBS)
ALT/TGP (U/L)	M	Até 42	42	35,10	35,65	26,33
	F		33,8	22,11	22,44	15,8 (S)
URE (mg/dL)	M	15 – 45	31,4	18,33	30,3	7,27
	F		25,72	7,430	28,16	7,02
CREA (mg/dL)	M	0,6 – 1,3	0,997	0,524	0,969	0,156
	F		0,680	0,149	0,756	0,1272 (NBS)
FER (mg/dL)	M	35 – 150	113,5	25,61	127,85	34,46
	F		114,4	39,43	110,68	41,83
IST (%)	M	20 – 50	44,62	58,6	35,70	10,59
	F		29,96	13,0	28,49	11,36

* Valor de referência baseado nas bulas dos reagentes utilizados – Labtest e dados do livro Henry
 *Os valores estão expressos em média ± D.P (n=45). TESTE t pareado (p <0.05). AST (Aspartato Transaminase/Transaminase glutâmico – oxalácética), ALT (Alanina transaminase/Transaminase glutâmico pirúvica), URE (Uréia), CREA (Creatinina), FER (Ferro) e IST (Índice de saturação de transferrina).

O aumento da AST é considerado forte indicativo de lesões crônicas, enquanto o aumento de ALT sugere lesões agudas, pode indicar que esse aumento

significativo no grupo exposto seja uma alteração subclínica estável, que só poderia ser confirmada com acompanhamento médico periódico. A elevação da ALT é considerada como um parâmetro sensível e precoce das alterações hepáticas decorrentes de exposições a agentes hepatotóxicos, antes que lesões irreversíveis se desenvolvam (RODRIGUES, 2011). Apesar das alterações dos padrões das enzimas hepáticas serem relacionadas a doenças comuns, não se pode descartar a possibilidade de resultarem de exposição a metais, já que a biotransformação de moléculas químicas ocorre, principalmente, no fígado.

Ao fazer uma correlação com os metais que estão em excesso nas águas do ambiente estudado (Fe e Mn) e os dados do exames bioquímicos (AST/ALT), verifica-se que a exposição aos metais, podem ocasionar patologias hepáticas. Pois, o Mn quando em excesso no organismo, em elevadas quantidades, podem causar efeitos tóxicos principalmente no sistema nervoso e este encontra-se em níveis mais elevados no fígado, conjugado aos sais biliares. E o excesso de Fe no sangue provoca a hemocromatose, doença que se caracteriza pelo acúmulo de ferro na forma de ferritina nos músculos, fígado, pâncreas, articulações e coração provocando danos aos órgãos e tecidos (ATSDR, 2012; RUPPENTHAL, 2013).

Para avaliação da função renal, usou-se como biomarcadores a uréia e a creatinina. Os dados de média e desvio padrão descritos na Tabela 3, foram considerados normais para os valores de referência, não havendo diferença significativa entre os grupos seja para uréia ($p=0,8044$) / ($p=0,2388$) ou para creatinina ($p=0,8169$) / ($p=0,0593$). No entanto, mesmo não apresentando resultados estatisticamente significativo, na avaliação renal foi evidenciado diferenças nos resultados, pois no grupo exposto 07 voluntários apresentaram alterações na creatinina e 01 com uréia alterada e no grupo não exposto não houve alterações. O fígado e os rins, principais órgãos de biotransformação e excreção de substâncias tóxicas, são alvos mais frequentemente afetados por agentes tóxicos.

A formação e excreção de uréia e creatinina fazem delas marcadores úteis na função renal. Níveis séricos desses metabólitos dentro da faixa de normalidade indicam uma função renal adequada. A ureia é considerada menos eficiente do que a creatinina pelos diferentes fatores não renais que podem afetar sua concentração. No entanto, sua elevação é mais precoce, e não sofre com a variação da massa muscular como ocorre com a creatinina, assim a avaliação conjunta de ambos os

metabólitos são úteis no diagnóstico diferencial das causas de lesão renal (RODRIGUES, 2011; WALLACH, 2011).

Na análise ferro sérico ($p=0,1447$) / ($p=0,7451$) e índice de saturação de transferrina ($p=0,5070$) / ($p=0,6723$) não determinou significância estatística nas correlações, mas tanto no grupo exposto quanto no não exposto, apresentaram 10% dos indivíduos com ferro aumentado e alterações no IST. O ferro é um elemento essencial na maioria dos processos fisiológicos do organismo humano, desempenhando função central no metabolismo energético celular (RODRIGUES; JORGE, 2010). A deficiência de ferro desenvolve-se, na maioria das vezes, de maneira lenta e progressiva e, pode ser dividida em três estágios: depleção dos estoques de ferro, eritropoiese deficiente em ferro e anemia. A sobrecarga de ferro é uma condição clínica em que há aumento nos níveis de ferro no organismo geralmente devido à elevada absorção do ferro da dieta, periódicas transfusões de sangue ou uso indevido de ferro pelo organismo (GROTTO, 2010).

Marcadores de sobrecarga de ferro incluem ferritina e saturação da transferrina, além de quantificação de ferro através de biópsia hepática. Se ocorrer de forma contínua, a sobrecarga de ferro leva à acúmulo de ferro no fígado, pâncreas, coração e outros órgãos e, se não tratados, eventualmente, levam à lesão celular e perda da função de alguns órgãos (LOZOFF et al., 2012; LOW et al., 2013). Transferrina é a proteína que transporta ferro pelo plasma, é sintetizada e secretada pelo fígado. A transferrina pode ser detectada em vários fluídos corporais, incluindo plasma, bile, leite materno e linfa. É a proteína responsável por doar o ferro para as células através da interação da transferrina com o receptor de transferrina presente na membrana da célula. Este complexo é internalizado e o ferro é liberado estando disponível no pool intracelular, então é utilizado para as necessidades metabólicas da célula ou incorporado a ferritina (GROTTO, 2010; SCHROEDER et al., 2013).

A transferrina é de relevante importância clínica quando se deseja avaliar os estoques de ferro do organismo. A proteína de transporte pode ser avaliada por dois métodos, pela capacidade de ligação do ferro a transferrina (TIBC), ou pelo seu grau de saturação, nas deficiências de ferro a TIBC apresenta-se aumentada, e nos casos de sobrecarga de ferro encontra-se diminuída, pois há muito ferro ligado a esta proteína, desta forma sua capacidade de ligação ao ferro está diminuída. O grau de saturação nas deficiências de ferro encontra-se diminuído, pois a transferrina tem menos ferro ligado, e nos casos de sobrecarga de ferro encontra-se

com saturação aumentada, pois todos os sítios ligantes estão ocupados com moléculas de ferro (CANÇADO; CHIATTONE, 2010; McPHERSON; PINCUS, 2012).

4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS DOS TESTES HEMATOLÓGICOS

As análises das amostras realizadas em contador automático Mindray BC6800 evidenciaram diferença estatisticamente significativa nos valores de HCM, plaquetas e linfócitos do grupo exposto em relação ao grupo não exposto. Não se definiu diferença significativa entre os demais parâmetros quantitativos analisados, tais como hemácias, hemoglobina, hematócrito, RDW, VCM, CHCM e leucócitos. A Tabela 4, 5 e 6, a seguir, mostram os valores obtidos de média \pm desvio padrão dos parâmetros hematológicos analisados, tanto do grupo exposto quanto do não exposto.

4.4.1 Eritrograma

Com base nos resultados obtidos na avaliação do eritrograma, observou-se que os indivíduos pertencentes ao grupo exposto apresentaram algumas alterações significativas. Nos parâmetros analisados, a principal significância estatística entre grupo exposto e não exposto apresentou-se no grupo feminino, onde o HCM determinou alterações ($p=0,0458$). Nos demais índices não foram observados nenhuma alteração significativa quanto a grupo exposto e não exposto, masculino e feminino respectivamente quanto ao número de hemácias ($p= 0,4693$) / ($p=0,2360$), Hb ($p=0,8175$) / ($0,3612$), HCT ($p=0,5417$) / ($p=0,3692$), RDW ($p=0,9802$) / ($p=0,6078$), VCM ($p=0,7861$) / ($p=0,0799$), HCM ($p=0,4515$), CHCM ($p= 0,2153$) / ($p=0,0709$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Dados dos valores obtidos no hemograma – hemácias e índices hematemétricos.

ELEMENTOS	AMOSTRA	Valor Ref. *	EXPOSTO (n=45)		NÃO EXPOSTO (n=45)	
			MEDIA	DP	MEDIA	DP
HEMÁCIAS (milhões/m ³)	M	4,5 -6,0	5,1	0,3947	5,18	0,2895
	F	4,1 -5,5	4,46	0,3095	4.59	0.4432
HB (g/dL)	M	11 – 16	15,06	1,053	15.13	0,6758
	F		13,06	1,088	12.74	1.264
HCT (%)	M	37 – 54	44,39	2,946	44.86	1,795
	F		39,1	3,050	38.38	3.555
RDW (%)	M	11 – 16	13,24	0,7163	13.25	0,5395
	F		13,372	0,792	13.5625	1.673
VCM (fL)	M	80 – 98	87,28	2,907	87,0	3,325
	F		87,57	3,440	84.47	7,938 (NBS)
HCM (pg)	M	28 – 33	29,62	1,132	29.33	1,275
	F	28 – 33	29,24	1,449	27.98	3.026 (S)
CHCM (%)	M	32 – 35	33,92	0,5836	33,70	0,492
	F		33,38	0,838	32,89	1,035 (NBS)

*Valor de referência baseado nas bulas dos reagentes utilizados – Mindray e do livro – Laboratório de hematologia: teorias, técnicas e práticas (2015).

*Os valores estão expressos em média ± D.P (n=45). Oneway TESTE t pareado (p <0.05). HB (Hemoglobina), HCT (Hematócrito), VCM (Volume corpuscular médio), HCM (Hemoglobina corpuscular média), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média), RDW (Coeficiente de variação do VCM).

A hemoglobina corpuscular média (HCM) é um dos parâmetros do hemograma que mede o tamanho e coloração da hemoglobina dentro da célula

sanguínea. O HCM, assim como o VCM buscam identificar o tipo de anemia, que pode ser normocrômica ou hipôcromica. O HCM alto se deve ao aumento anormal do tamanho dos glóbulos vermelhos, pode ser característico de anemia hiperocrômicas, alterações da tireóide, alcoolismo, podendo também levar ao surgimento de anemia megaloblástica (PEREIRA et al., 2013; MELO; SILVEIRA, 2015). Assim, observa-se que o HCM do grupo exposto está dentro do valor de referência, mas com tendência a baixar, enquanto o grupo não exposto apresenta valor abaixo da normalidade, sendo característico de uma anemia hipocrômica.

4.4.2 Leucograma

Quanto aos parâmetros leucocitários entre grupo exposto e não exposto, não se determinou valores significativos para leucócitos totais, mas na diferencial, o grupo masculino apresentou linfócitos com evidencia estatística significativa ($p=0,0108$), porém encontram-se dentro do intervalo de referência. Os demais índices não apresentam nenhuma alteração significativa, sendo assim analisados os demais parâmetros: leucócitos ($p=0,8812$) / ($p=0,1506$), neutrófilos ($p=0,6623$) / ($p=0,0879$) e linfócitos ($p=0,3990$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Dados dos valores obtidos no hemograma – leucograma.

ELEMENTOS	AMOSTRA	Valor Ref.*	EXPOSTO (n=45)		NÃO EXPOSTO (n=45)	
			MEDIA	DP	MEDIA	DP
Leucócitos (mm ³)	M	4000 - 10000	6934	1377,7	6999,5	1376,6
	F		6659	2733,4	7628,3	1754,0
Neutrófilos (%)	M	50 – 70	54,7	7,92	53,70	6,30
	F		53,8	8,34	58,33	9,55
Linfócitos (%)	M	20 – 40	29,96	5,96	35,33	6,70 (S)
	F		34,48	8,43	32,48	8,28

* Valor de referência baseado nas bulas dos reagentes utilizados – Mindray e no livro – Laboratório de hematologia: teorias, técnicas e práticas (2015)

*Os valores estão expressos em média ± D.P (n=45). TESTE t pareado (p <0.05).

Os leucócitos são células que fazem parte do sistema imunológico do organismo e têm como principais funções o combate e eliminação de microrganismos e estruturas químicas estranhas no organismo – sejam eles patogênicos ou não. São classificados em mononucleares e polimorfonucleares. Os mononucleares incluem os linfócitos e monócitos, enquanto os polimorfonucleares, que também são denominados de granulócitos, incluem os neutrófilos, eosinófilos e basófilos (McPHERSON, PINCUS, 2012). Os neutrófilos aumentados/neutrofilia têm propriedade de defesa contra microrganismo, principalmente bactérias e fungos, e também apresentam-se em hemorragias, entretanto, em protozooses, agentes químicos e pacientes debilitados os neutrófilos encontram-se diminuído/neutropenia. Enquanto os linfócitos aumentados/linfocitose são comuns em infecções virais, infecções crônicas e hemopatias, já diminuídos/linfopenia são comuns em infecções agudas, alcoolismo, radiação, terapia imunossupressora e HIV (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

4.4.3 Plaquetograma

A contagem no número de plaquetas da população exposta/não exposta apresentou alterações expressivas em relação ao aumento. Dos indivíduos estudados, o grupo não exposto foi o q apresentou mais situações de trombocitose, sendo do grupo masculino. Portanto, nos parâmetros plaquetários comparados, o número de plaquetas no grupo masculino (p=0,0189) e o PDW no grupo masculino (p=0,0464) e feminino (p=0,0009) apresentaram significância (Tabela 6), mas encontram-se dentro dos intervalos de referência.

Tabela 6 - Dados dos valores obtidos no hemograma – plaquetograma.

ELEMENTOS	AMOSTRA	Valor Ref.*	EXPOSTO (n=45)		NÃO EXPOSTO (n=45)	
			MEDIA	DP	MEDIA	DP
Plaquetas	M		236.100	61.381	292.900	83.489 (S)

(mm ³)	F	100.000 – 424.000	284.916	69.107	310.708	67.145
MPV (fL)	M	7,4 –10,4	11	1,152	10,47	1,371
	F		10,6	0,931	10,3	0,954
PDW	M	15 - 17	16,28	0,3350	16,07	0,3097 (S)
	F		16,20	0,300	15,80	0,460(ES)

* Valor de referência baseado nas bulas dos reagentes utilizados – Mindray e no livro – Laboratório de hematologia: teorias, técnicas e práticas (2015)

*Os valores estão expressos em média ± D.P (n=45). TESTE t pareado (p <0.05). MPV, PDW.

As plaquetas são os menores elementos formados no sangue, em forma de disco, sem núcleo, com uma frágil membrana, produzida na medula óssea por fragmentação de megacariócitos. Para avaliar as plaquetas, analisa-se o número total de plaquetas, além do índice PDW e VPM que é o volume plaquetário médio, são índices simples da análise plaquetária, pois aumentam durante a ativação plaquetária. Define-se trombocitopenia a contagem de plaquetas abaixo de 100.000/mm³ e trombocitose refere-se ao aumento na contagem de plaquetas no valor máximo normal (PEREIRA et al., 2013).

Outro parâmetro importante é o volume plaquetário médio (VPM) o qual é considerado um indicador da atividade plaquetária. É utilizado clinicamente na terapia de púrpuras plaquetárias, síndromes plaquetárias, mielodisplasias e seu crescimento foi demonstrado em diversos eventos vasculares agudo, incluindo angina instável, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral (GÜVENÇ et al., 2013; MELO; SILVEIRA, 2015). O PDW (Platelet Distribution Width) define a amplitude de distribuição das plaquetas, é um marcador mais específico de ativação plaquetária, uma vez que não aumenta durante o inchaço plaquetário simples. PDW alto mostra que as plaquetas variam consideravelmente de tamanho, o que pode indicar distúrbios que afetam a medula óssea ou as plaquetas, sendo importante realizar mais testes. Também pode ser característico de certos tipos de anemia, câncer, condições inflamatórias, doenças infecciosas e uso de anticoncepcional. Entretanto, PDW com valores baixos pode ser indicativo de desordem na medula óssea ou ser típico de infecções virais como hepatite, sarampo e mononucleose.

Alguns tipos de câncer e certos fármacos podem levar o PDW a resultados baixos (McPHERSON; PINCUS, 2012; MELO; SILVEIRA, 2015).

4.4.4 Morfologia Celular

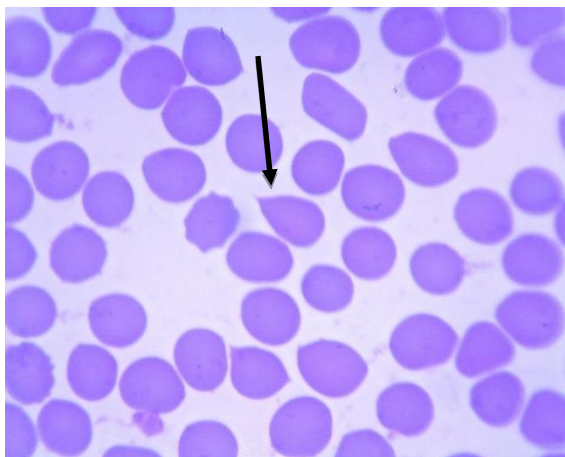
Além da investigação de parâmetros hematológicos e índices hematimétricos, os esfregaços sanguíneos dos pacientes dos dois grupos, exposto e não exposto, foram submetidos a uma minuciosa análise microscópica visando encontrar possíveis diferenças morfológicas que pudessem auxiliar na diferenciação entre eles. Foi avaliada a presença ou não de alterações no tamanho e forma das células.

Foram analisadas 100 células por lâmina, totalizando 200 células por indivíduo. A partir das avaliações microscópicas das lâminas hematológicas, foram realizadas as análises qualitativas e quantitativas das células.

O número de dacriócitos, equinócitos, neutrófilos hipossegmentado e macroplaquetas foi elevado no grupo de pacientes expostos, enquanto que no grupo de não exposto as lâminas apresentaram normalidade em suas células e plaquetas. Os dados apontam que houveram importantes achados no que tange a morfologia dos eritrócitos, caracterizando uma elevada poiquilocitose bem como alterações relevantes na linhagem branca e plaquetária.

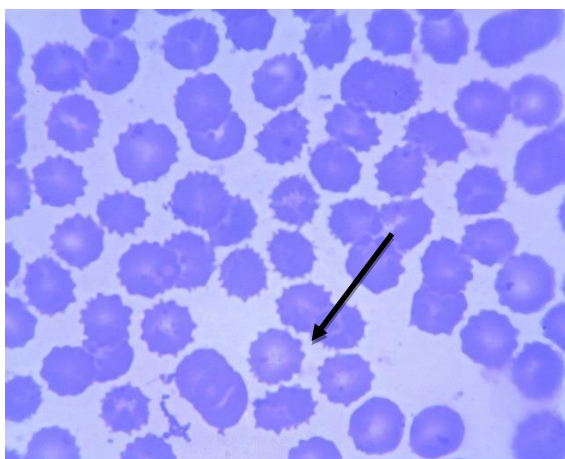
Os dacriócitos são eritrócitos em formato de gota de lágrima ou pêra (Figura 5), surgem quando há fibrose da medula óssea ou diseritropoese severa e, também em algumas anemias hemolíticas. São característicos principalmente da anemia megaloblástica, da talassemia maior e da mielofibrose, tanto primária quanto secundária a carcinoma metastático ou a outro tipo de infiltração da medula óssea (BAIN, 2016). Os equinócitos são eritrócitos que perderam o formato discóide e apresentam-se coberto de 10 a 30 espículas rombudas, de forma e distribuição relativamente regulares (Figura 6). Equinócitos podem ser produzidos *in vitro*, pela exposição a ácidos graxos e a certas drogas, ou simplesmente por incubação. A formação de equinócitos *in vivo*, pode estar relacionado ao aumento de ácidos graxos no plasma, à depleção de ATP e à formação de lisolecitina (McPHERSON, PINCUS, 2012; MELO; SILVEIRA, 2015).

Figura 5 – Dacriócito – grupo exposto.



Fotos: própria autora, 2017.

Figura 6 – Equinócito – grupo exposto.



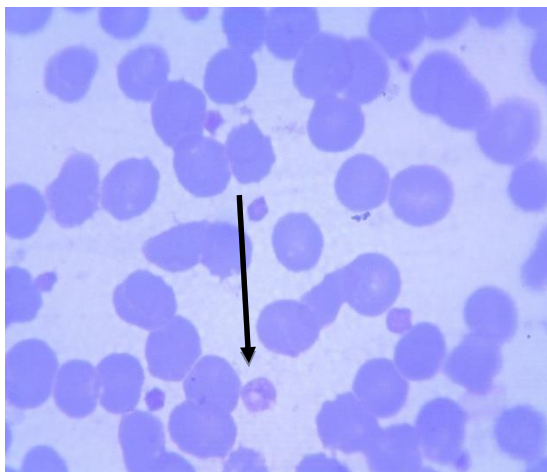
Fotos: própria autora, 2017.

A formação de macroplaquetas e plaquetas gigantes podem ocorrer devido o VPM estar aumentado devido uma renovação plaquetária acelerada (Figura 7). Plaquetas de diferentes tamanhos caracterizam uma anisocitose plaquetária, comum nas síndromes mieloproliferativas, mielodisplásicas e disfunções plaquetárias (MELO; SILVEIRA, 2015).

Através do esfregaço foi possível também identificar micronúcleos (MN) (Figura 8), em lâminas de pacientes exposto. O aumento na frequência de micronúcleos está relacionado com a quebra de um cromossomo ou de uma interferência que possa ter ocorrido durante o processo da mitose celular, em que o núcleo se fragmenta, formando estruturas extranucleares que contêm pequenos fragmentos de DNA (PEREIRA et al., 2008). Estes danos sofridos pelo DNA da

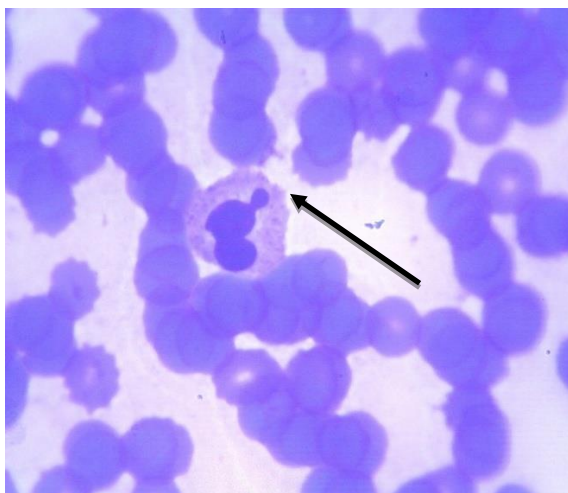
célula, expostas aos agentes ambientais, são incorporados como erros, uma vez que não são reparados pelos complexos sistemas de reparo da célula (SHASHIKALA et al., 2015). Conseqüentemente ocorre um aumento na instabilidade genética que é a causa subjacente do desenvolvimento de neoplasias. A formação de MN pode estar associada ao atraso da disposição do cromossomo na parte equatorial da célula, e conseqüentemente um cromossomo ou mais sofrem erros de disjunção e são simplesmente eliminados do núcleo principal. A formação de MN é um indicativo de genotoxicidade de um determinado fator capaz de causar mutações na fita de DNA, principalmente grandes deleções (SPEIT, 2013; BATISTA; CAMPOS JÚNIOR, 2014).

Figura 7 – Macroplaquetas – grupo exposto.



Fotos: própria autora, 2017.

Figura 8 – Micronúcleo – grupo exposto.

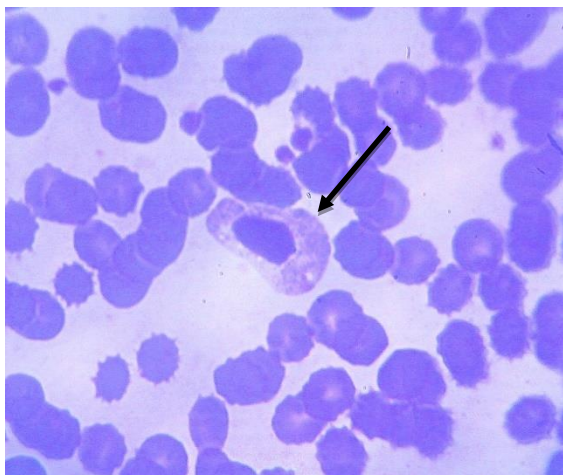


Fotos: própria autora, 2017.

Dentre os leucócitos circulantes, os neutrófilos são o tipo leucocitário mais abundante e compõem a principal barreira do sistema imune inato contra microrganismos, porém, em contraste com os macrófagos, apresentam um curto período de vida, cerca de 8 a 12 horas na circulação sanguínea, antes de migrarem para o tecido (AMULIC et al., 2012). Os neutrófilos são um importante componente do sistema de defesa do organismo, formando a primeira linha na defesa contra agentes invasores. Eles normalmente são liberados da medula óssea como células maduras e, após breve período na circulação, migram através do endotélio vascular para os tecidos por meio de quimiotaxia positiva ao foco inflamatório (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013; MAYADAS et al., 2014).

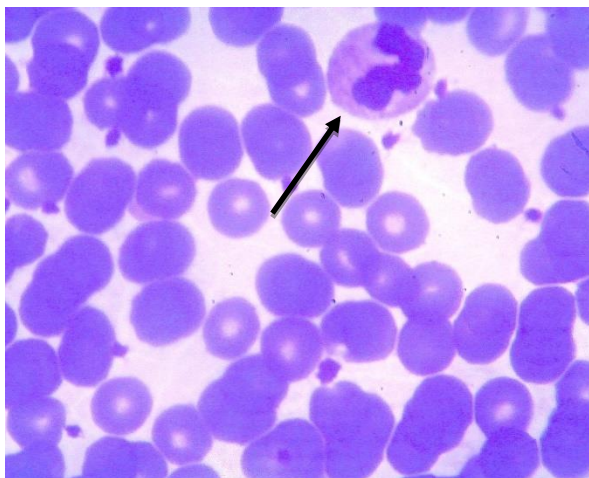
Nos tecidos estas células realizam fagocitose de microrganismo e outros materiais estranhos. Alterações na morfologia dos neutrófilos são importantes na interpretação do leucograma assim como para identificarmos a etiologia da doença. Em geral alterações morfológicas podem refletir a idade da célula, alterações degenerativas, alterações induzidas por doenças infecciosas, doenças mieloproliferativas ou genéticas (KOLACZKOWSKA; KUBES, 2013). Nas lâminas analisadas dos pacientes expostos foi possível identificar um número aumentado de neutrófilos hiposegmentado, que se caracterizam por apresentar menos de 5 lobos, são neutrófilos jovens, mas não mais considerados bastonetes, já são indicativos de tendência ao desvio a esquerda. Nos pacientes controle, ou seja, os não expostos, todas as lâminas apresentaram neutrófilos com estruturas dentro da normalidade (SILVA, 2015).

Figura 9 - Neutrófilo hiposegmentado – grupo exposto.



Fotos: própria autora, 2017.

Figura 10 - Neutrófilo normal – grupo não exposto.



Fotos: própria autora, 2017.

O hemograma, embora tenha um poder diagnóstico limitado, nas mãos de um clínico que conheça as funções celulares e as bases fisiopatológicas das doenças pode ser uma ferramenta importante para a avaliação de diversas situações, como no diagnóstico e evolução de doenças hematológicas, detecção de quadros infecciosos e no monitoramento terapêutico. Novos parâmetros laboratoriais obtidos de sistemas automatizados podem ser auxiliares na análise do sangue e da medula óssea, mas devem ser utilizados com cautela. Vale lembrar que a microscopia ainda é fundamental para a identificação de várias anormalidades na hematopoiese. A associação dos dados referentes a aspectos quantitativos, aspectos morfológicos e conhecimento fisiopatológico dos distúrbios da hematopoiese é importante para um diagnóstico preciso das alterações que acometem o sangue e a medula óssea (GROTTO, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A água pode ser sugerida como uma importante fonte de exposição a esses xenobióticos. Pois, os resultados da análise de água mostraram que existe a contaminação da água por manganês, excesso de ferro com rejeitos de mineração, que precisam ser investigados no sangue de pessoas expostas.
- Os resultados sugerem que a população estudada não apresentou alterações em todos os parâmetros hematológicos e bioquímicos estatisticamente significativos. Tais resultados denotam que não ocorreu intoxicação por metais, mas apresentaram alterações em índices hematimétricos, plaquetas, morfologia das hemácias e na enzima ALT, que podem sim significar algum comprometimento devido a exposição.
- Verificou-se a importância em analisar ferro sérico e transferrina para avaliar os estoques de ferro do organismo, pouca referência é encontrada quando se relaciona estes parâmetros à doença hepática. As pesquisas para este assunto encontram-se estagnadas, visto pela dificuldade em encontrar materiais para pesquisa de fontes atuais. É uma área que se tem muito a descobrir e deve ser explorada com o intuito de ajudar os pacientes que apresentam excesso de ferro antes que a doença hepática venha a se desenvolver, prejudicando o funcionamento do órgão, e diminuindo a qualidade de vida do paciente afetado.
- Alterações morfológicas em hemácias, neutrófilos e plaquetas na população exposta sugere maiores análises, pois podem ser indicativos de contaminação.
- A identificação de MN indica uma instabilidade genética na população exposta, diante disso faz-se necessário o biomonitoramento nesses voluntários.
- Este estudo demonstrou que é importante investigar as fontes de exposição a metais e tomar medidas preventivas para eliminar ou minimizar os riscos dos efeitos adversos relacionados à exposição excessiva a múltiplos metais
- Mais estudos são necessários, que possam investigar diferentes áreas de contaminação ambiental a metais, identificando prováveis fontes de exposição, especialmente estudos envolvendo crianças, por se tratarem de um grupo especialmente sensível à toxicidade desses xenobióticos.

- AMULIC, B.; CAZALET, C.; HAYES, G.L.; METZLER, K.D.; ZYCHLINSKY, A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. **Annual Review of Immunology**, v.30, p.459-489 2012.
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2012). **Toxicological profile for Manganese**. U.S. Department of Health and Human Services Public Health. Disponível em: < <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp151.pdf> >. Acesso em: 26 fev. 2018.
- BAIN, B.J. **Células Sanguíneas – guia prático**. Porto Alegre. Artmed, 2016. p.84-85.
- BATISTA, C.R.; CAMPOS JÚNIOR, E.O. Avaliação da Genotoxicidade em Células de Pacientes fumantes e não fumantes por meio do Teste de Micronúcleo. **Getec**, v.3, n.6, p.49-58, 2014.
- CANÇADO, R.D.; CHIATTONE, C.S. Anemia Ferropênica no adulto – causas, diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, n.3, p.240-246, 2010.
- CONAMA. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 mar. 2005, Seção 1, p. 58-63.
- COSTA, T.P.C. **Biomonitoramento citogenético e laboratorial em agentes de endemias expostos a pesticidas organofosforados no município de Valença – PI**. 2014. 128 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Ceará/UFC, Fortaleza, 2014.
- FACUNDES, R.S. **Danos socioambientais provenientes do manuseio inadequado de rejeitos de manganês e as implicações para a vida e a saúde dos moradores da vila do Elesbão**. 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado) Universidade federal do Amapá/UNIFAP, Macapá, 2011.
- GROTTO, H.Z.W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.31, n.3 p.178-182, 2009.
- GROTTO, H.Z.W. Diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, n.2, p.22-28, 2010.
- GÜVENÇ, T.S.; HASDEMİR, H.; ERER, H.B.; ILHAN, E.; ÖZCAN, K.S.; ÇALIK, A.N.; ÇETIN, R.; EREN, M. O Volume Plaquetário Médio Abaixo do Normal está

Associado com Extensão Reduzida de Doença Arterial Coronariana. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.100, n.3, p.255-260, 2013.

IBGE. **Censo Demográfico**, 2010. Disponível em : <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ap/macapa/panorama>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

KHAN, K.; WASSERMAN, G.A.; LIU, X.; AHMED, E.; PARVEZ, F.; SLAVKOVICH, V.; LEVY, D.; MEY, J.; VAN GEEN, A.; GRAZIANO, J.H.; FACTOR-LITVAK, P. Manganese exposure from drinking water and children's academic achievement. **Neurotoxicology**, v.33, n.1, p.91-97, 2012.

KLAASSEN, C, D.; WATKINS, J.B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. Porto Alegre. AMGH, 2012.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v.13, n.3, p.159-175, 2013.

LIMA, M.O.; FAIAL, K.L.; BRABO, E.S.; SANTOS, E.C.O.; ANGELICA, R.S.; MENDES, R.A.; CARNEIRO, B.S.; SÁ, L.L.C.; VALE, E.R.; JESUS, I.M. Avaliação de arsênio total, de elementos traços e bacteriológica em águas de consumo na comunidade do Elesbão, Município de Santana, Estado do Amapá, Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v.15, n.4, p.467-482, 2007.

LIMA, D.P.; SANTOS, C.; SILVA, R.S.; YOSHIOKA, E.T.O.; BEZERRA, R.M. Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil. **Acta Amazonica**, v.45, p.405-414, 2015.

LIMA, M.O.; MENDES, L.C.S.; QUEIROZ, T.K.L.; COSTA, B.N.S.; SAILVA, M. M. C.; FERREIRA, D.P.M.; VASCONCELOS JR. N.T.; CARNEIRO, B.S.; MARQUES, L.C. A.; FAIAL, K.C.F. **Avaliação preliminar dos impactos ambientais referente ao transbordo e lançamentos irregulares de efluentes de lama vermelha na cidade de Barcarena, Estado do Pará**. 2018. 51 f. Relatório técnico. Instituto Evandro Chagas, Secretaria de Vigilância em Saúde, Pará, 2018.

LOPES, L.M.N. O rompimento da barragem de Mariana e seus impactos socioambientais. **Sinapse Múltipla**, v.5, n.1, p.1-14, 2016.

LOW, M.; FARREL, A.; BIGGS, B.A.; PASRICHA, S.R. Effects of daily iron supplementation in primary-school-aged children: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Canadian Medical Association Journal**, v.185, n.17, p.791-802, 2013.

LOZOFF, B.; CASTILLO, M.; CLARK, K.M.; SMITH, J. B. Iron-fortified vs low-iron infant formula: developmental outcome at 10 years. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v.166, n.3, p.208-215, 2012.

MAYADAS, T.N.; CULLERE, X.; LOWELL, C.A. The multifaceted functions of neutrophils. **Annual Review of Pathology**, v.9, p.181-218, 2014.

McPHERSON, R.A.; PINCUS, M.R. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. Barueri. Manole, 2012.

MELO, M.A.W.; SILVEIRA, C.M. **Laboratório de hematologia: teorias, técnicas e atlas**. Rio de Janeiro. Rubio, 2015.

MORA, A.M.; DE JOODE, B, W. W.; MERGLER, D.; CÓRDOBA, L.; CANO, C.; QUESADA, R.; SMITH, D.R.; MENEZES-FILHO, J.; LUNDH, T.; LINDH, C.H.; BRADMAN, A.; ESKENAZI, B. Blood and Hair Manganese Concentrations in Pregnant Women from the Infants' Environmental Health Study (ISA) in Costa Rica. **Environmental Science & Technology**, v.48, n.6, p.3467-3476, 2014.

MUDGAL, V.; MADAAN, N.; MUDGAL, A.; SINGH, R.B.; MISHRA, S. Effect of toxic metals on human health. **The Open Nutraceuticals Journal**, v.3, p.94-99, 2010.

PAULA, S.N.C. **Biomonitoramento como Instrumento de Detecção de Contaminantes Ambientais**. 2010. 38 f. Monografia (Especialização) Universidade Veiga de Almeida, Vitória, 2010.

PEDREIRA FILHO, W.R.; RIBEIRO, E.F.; LIZARTE NETO, F.S. Elementos metálicos em pescados comercializados na cidade de São Paulo. **Conscientia e Saúde**, v.2, p. 61-65, 2009.

PEREIRA, F.C.; SANTOS, F.L.T.; VILANOVACOSTA, C.A.S.T.; SILVA, C.C.; DA CRUZ, A.D. Avaliação Citogenética em Indivíduos ocupacionalmente expostos ao chumbo. **Revista Estudos**, v.35, n.1/2, p.107-122, 2008.

PEREIRA, A.V.; ROCHA, F.D.L.M.; OLIVEIRA, A.N.; TAPETY, F.I.; CAVALCANTE, A.C.M.; CHAVES, T.V.S. Haematological and genotoxic profile study of workers exposed to medical waste. **Journal of Research: Fundamental care online**, v.5, n. 6, p.160-168, 2013.

RIBEIRO, D.A. Cytogenetic biomonitoring in oral mucosa cells following dental X-ray. **Dentomaxillofacial Radiology**, v.41, n.3, p.181-184, 2012.

RIM, K.T.; KIM, S.J.A Review on Mutagenicity Testing for Hazard Classification of Chemicals at Work: Focusing on in vivo Micronucleus Test for Allyl Chloride. **Safety and Health at Work**, v.6, n.3, p.184-91, 2015.

RODRIGUES, J.L.; BATISTA, B.L.; NUNES, J.A.; PASSOS, C.J.; BARBOSA, F. JR. Evaluation of the use of human hair for biomonitoring the deficiency of essential and exposure to toxic elements. **Science of the Total Environment**, v.1, n.405, p. 1-3, 2008.

RODRIGUES, L.P.; JORGE, S.R.P.F. Deficiência de ferro na mulher adulta. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, p.49-52, 2010.

RODRIGUES, V.R.C.B. **Avaliação das alterações hematológicas, bioquímicas e genotóxicas nos trabalhadores expostos a agrotóxicos em municípios do**

Estado do Piauí. 2011. 138 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Ceará/UFC, Fortaleza, 2011.

RUPPENTHAL, J.E. **Toxicologia.** 2013. 128 f. Caderno, Colégio Técnico Industrial da Universidade Federal de Santa Maria/UFSM, Santa Maria, 2013.

SANTOS, E.C.O.; JESUS, I.M.; FAYAL, K.F.; SÁ FILHO, G.C.; LIMA, M.O.; MIRANDA, A.M.M.; MASCARENHAS, A.S.; CANTO DE SÁ, L.L.; SILVA, A.P.; CÂMARA, V.M. Exposição ao mercúrio e ao Arsênio em Estados da Amazônia: síntese dos estudos do Instituto Evandro Chagas/FUNASA. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.6, n.2, p.171-185, 2003.

SCARPELLI, W. Arsênio do minério de manganês de Serra do Navio. **Revista Novos Cadernos**, v.6, n.1, p.101-133, 2003.

SCHROEDER, N.; FIGUEIREDO, L.S.; DE LIMA, M.N.M. Role of brain iron accumulation in cognitive dysfunction: evidence from animal models and human studies. **Journal of Alzheimer's Disease**, v.34, n 4, p.797-812, 2013.

SHASHIKALA, R.; INDIRA, A.P; MANJUNATH, G.S.; ARATHI RAO,K.; AKSHATHA,B.K. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v.7, n. 2, p.409-413, 2015.

SILVA, J.M.B.; BARRIO, R.J.; MOREIRA, J.C. **Arsênico - saúde: uma relação que exige vigilância.** **Revista Vigilância Sanitária em Debate**, v.2, n.1, p.57-63, 2014.

SILVA, I.C. Neutrófilos: aspectos clássicos, plasticidade e Novas funções imunoregulatórias. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v.7, p.35-46, 2015.

SPEIT, G. Does the recommended lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for human biomonitoring actually detect DNA damage induced by occupational and environmental exposure to genotoxic chemicals? **Mutagenesis**, v.28, n.4, p.375-380, 2013.

WALLACH, J. **Interpretação de Exames Laboratoriais.** Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2011.

ANEXOS E APÊNDICES

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
AMAPÁ - UNIFAP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: BIOMONITORAMENTO ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO GENOTÓXICA E LABORATORIAL DE UMA POPULAÇÃO EXPOSTA A MINÉRIOS.

Pesquisador: Silvia Eline Alfaia Lima

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 62686516.9.0000.0003

Instituição Proponente: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.278.622

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_982871_E1.pdf	14/09/2017 14:03:13		Aceito
Outros	TERMOUBS.pdf	14/09/2017 14:01:53	Silvia Eline Alfaia Lima	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTO2017.pdf	14/09/2017 13:58:40	Silvia Eline Alfaia Lima	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOSILVIAALFAIA2.pdf	21/08/2017 15:41:24	Silvia Eline Alfaia Lima	Aceito
Outros	FolhadeRostoll.pdf	31/01/2017 17:55:35	Silvia Eline Alfaia Lima	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLESilviaAlfaia.pdf	31/01/2017 17:46:47	Silvia Eline Alfaia Lima	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MACAPA, 15 de Setembro de 2017

Apêndice 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE
PORTARIA 466/12 DO CNS

Eu, _____,
brasileiro (a), _____ anos, estado civil _____,
profissão: _____; residente na:
_____ e RG

nº _____, estou sendo convidado a participar de um estudo denominado **BIOMONITORAMENTO ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO GENOTÓXICA E LABORATORIAL DE UMA POPULAÇÃO EXPOSTA A MINÉRIOS**. Cujos objetivos e justificativas são: Avaliar os efeitos tóxicos e os possíveis problemas de saúde relacionados a exposição a metais e minério um grupo populacional do Bairro Elesbão no município de Santana, utilizando o testes laboratoriais e genotóxicos, pois, através do teste laboratorial, micronúcleo e cometa em células sanguíneas, será fundamental investigar as suspeitas da influência de metais pesados e minério em possíveis alterações genéticas em moradores do bairro Elesbão próximo a área de mineração no município de Santana, garantindo assim uma referência para estudos genotóxico no local que a muitos anos armazena minério a céu aberto.

A minha participação no referido estudo consistirá em aceitar que o pesquisador realize uma coleta de sangue e células na mucosa oral. Fui alertado que da pesquisa que será realizada, posso esperar benefício, como: ter maior esclarecimento sobre os possíveis riscos de genotoxicidade na área onde habito, podendo assim receber melhores orientações sobre a questão de contaminantes na área, evitando assim futuros problemas de saúde. Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar,

será mantido em sigilo. Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e se, por acaso desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

A pesquisadora envolvida com o referido projeto será SILVIA ELINE ALFAIA LIMA e com ela poderei manter contato pelos telefones (96) 99127.0028.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, além de receber os exames laboratoriais após a realização, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o que aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Em caso de reclamação ou qualquer tipo de denúncia sobre este estudo devo ligar para o CEP UNIFAP (nº 96.4009-2805/ 4009-2804).

Santana- AP, ____ de _____ de 2017.

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

Nome(s) e assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável (responsáveis)



Impressão datiloscópica

Testemunha 1:	
Testemunha 2:	

Apêndice 2 – QUESTIONÁRIO SÓCIO ECONÔMICO

QUESTIONÁRIO PESSOAL

Por favor, leia as questões seguintes cuidadosamente e responda –as da forma mais completa e precisa possível. A informação que você deve dá não será associada a seu nome em nenhum documento público, e será de conhecimento somente dos principais pesquisadores desse estudo. Essas informações podem ter influência direta na interpretação de nossos resultados, portanto pedimos que coopere gentilmente fornecendo informações corretas e verdadeiras. Desde já agradeço o interesse em colaborar.

A. Nome:

(_____) (_____) (_____)
Ultimo Primeiro Meio

B. Código: (_____)

Data: _____ / _____ / 2017

Esta folha deve ser destacada do restante do questionário e preenchida pelo pesquisador. Somente o código será usado como identificação para as páginas posteriores. Se for necessário espaço adicional para completar a resposta, por favor escreva no verso da página e identifique a parte restante da questão com seu respectivo número.

LIMA, S. E. A
Pesquisador(a)

AVALIAÇÃO LABORATORIAL
GRUPO ANACLIN

CÓDIGO do PARTICIPANTE
(_____)

QUESTIONÁRIO PESSOAL

1. IDENTIFICAÇÃO

Sexo: M (<input type="checkbox"/>) F (<input type="checkbox"/>)		
Data de nascimento:	Nº da Carteira de Identidade:	
Endereço:		
Bairro:	Cidade:	Estado:
Telefone:	Profissão:	
Quanto tempo mora no Elesbão:	Mais de 5 anos (<input type="checkbox"/>) Mais de 10 anos (<input type="checkbox"/>)	
Estado civil: Casado (<input type="checkbox"/>) Solteiro (<input type="checkbox"/>) União Estável (<input type="checkbox"/>) Divorciado (<input type="checkbox"/>) Viúvo (<input type="checkbox"/>)		
Raça/Cor: Negro (<input type="checkbox"/>) Branco (<input type="checkbox"/>) Pardo (<input type="checkbox"/>) Indígena (<input type="checkbox"/>) Amarelo (<input type="checkbox"/>)		
Tem filhos: Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>), se sim, quantos 1 (<input type="checkbox"/>) 2 (<input type="checkbox"/>) mais de 3 (<input type="checkbox"/>)		

2. HISTÓRICO SOCIAL

Escolaridade: Ens. Fundamental (<input type="checkbox"/>) Ens. Médio (<input type="checkbox"/>) Ens. Superior (<input type="checkbox"/>)	
Trabalha: Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	Função:
Tempo de serviço:	

Quais das substâncias citadas abaixo em seu trabalho atual você já ficou exposto?		
Derivados do Petróleo	Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	Tempo de Exposição
Tintas e corantes	Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	
Solventes	Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	
Pesticidas herbicidas	Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	
Mercúrio vapor de outros metais pesados	Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	
Outras substâncias químicas	Sim (<input type="checkbox"/>) Não (<input type="checkbox"/>)	
Quais substâncias químicas?		

Qual a função no trabalho anterior?		
Quais das substâncias citadas abaixo em seu trabalho anterior você já ficou exposto?		
Derivados do Petróleo	Sim () Não ()	Tempo de Exposição
Tintas e corantes	Sim () Não ()	
Solventes	Sim () Não ()	
Pesticidas herbicidas	Sim () Não ()	
Mercúrio vapor de outros metais pesados	Sim () Não ()	
Outras substâncias químicas	Sim () Não ()	
Quais substâncias químicas?		

Você utiliza alguma medida de proteção no seu atual trabalho?	? Sim () Não ()
Caso a resposta seja sim, quais são as medidas utilizadas:	

3. HISTÓRICO DE SAÚDE

Você já fumou?	Sim () Não ()	
Se nunca fumou, pule 4 questões:		
Você fuma atualmente?	Sim () Não ()	
Durante quantos anos fuma/fumou?	2 anos () 4 anos () mais que 5 anos ()	
Você fuma:	Cigarros () Charutos () cigarros de palha () Cachimbo ()	
Quantas vezes ao dia?	2X () 4X () 6X () mais 8X ()	
Você faz uso de alguma medicação?	Sim () Não () se sim qual?	

Quantas vezes ao dia?	2X () 4X () 6X () ao dia	
Prescrita por médico: Sim () Não ()	Automedicação: Sim () Não ()	
Está fazendo algum tipo de tratamento atualmente?	Sim () Não (), se sim, qual	
Você toma vitaminas/suplementos ou tem tomado nos últimos 6 meses?	Sim () Não ()	
Fez alguma cirurgia nos últimos 12 meses?	Sim () Não ()	
Apresenta alguma alergia?	Sim () Não ()	
Apresenta alguma necessidade especial?	Sim () Não ()	
Pratica alguma atividade física?	Sim () Não ()	

4. HISTÓRICO ALIMENTAR

Você come carne?	Sim () Não ()
Você come apenas vegetais?	Sim () Não ()
Você usa adoçantes?	Sim () Não ()
Você consome refrigerantes?	Sim () Não ()
Você toma café?	Sim () Não ()
Você consome bebida alcoólica?	Sim () Não (), se sim há quanto tempo? Menos de 5 anos () mais de 5 anos ()

5. HISTÓRICO GENÉTICO

Alguém da família apresenta algum defeito de nascimento, problemas genéticos ou doenças hereditárias?	Sim () Não (), se sim:	Marque o grau de parentesco abaixo: Pais () Irmãos () cônjuges () Filhos ()
Você e seu cônjuge tiveram dificuldades em gerar filhos ou foram diagnosticados como estéreis?	Sim () Não ()	
Você ou seu cônjuge já sofreu algum aborto espontâneo?	Sim () Não ()	

Você possui algum irmão gêmeo?	Sim () Não ()	
Há caso de câncer na família?	Sim ()	Marque o grau de parentesco abaixo: Pais () Irmãos () cônjuges () Filhos () outro (), qual? _____
	Não ()	Qual o tipo de câncer? Mama () pele () Leucemia () estômago () outros (), qual? _____

LIMA, S. E. A
Pesquisador(a)

AVALIAÇÃO LABORATORIAL
GRUPO ANACLIN

CÓDIGO do PARTICIPANTE
(_____)