

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ  
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO DEPARTAMENTO  
DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE FARMÁCIA**

**TIAGO PANTOJA BAIA  
ÉERICA MONTEIRO MACEDO**

**INVESTIGAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO POR COBRE NOS MORADORES DE  
SANTANA-AP COM EXPOSIÇÃO À REJEITOS DE MINÉRIOS.**

**Macapá**

**2019**

TIAGO PANTOJA BAIA  
ÉRICA MONTEIRO MACEDO

**INVESTIGAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO POR COBRE NOS MORADORES DE  
SANTANA-AP COM EXPOSIÇÃO À REJEITOS DE MINÉRIOS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Profº Dr. Madson Ralide Fonseca  
Gomes.

**Macapá**  
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

Elaborada por Cristina Fernandes – CRB-2/1569

---

Baia, Tiago Pantoja.

Investigação de contaminação por cobre nos moradores de Santana-AP com exposição à rejeitos de minérios / Tiago Pantoja Baia, Erica Monteiro Macedo; Orientador, Madson Ralide Fonseca Gomes. – Macapá, 2019. 62 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Curso de Farmácia.

1. Água potável – Contaminação. 2. Cobre. 3. Efeito dos metais pesados. 4. Toxicologia ambiental. I. Macedo, Erica Monteiro. II. Gomes, Madson Ralide Fonseca, orientador. III. Fundação Universidade Federal do Amapá. IV. Título.

628.5 B152i

CDD: 22. ed.

---

TIAGO PANTOJA BAIA  
ÉERICA MONTEIRO MACEDO

**INVESTIGAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO POR COBRE NOS MORADORES DE  
SANTANA-AP COM EXPOSIÇÃO À REJEITOS DE MINÉRIOS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Data de Aprovação: 06 de Dezembro de 2019.



---

**Orientador: Prof. Dr. Madson Ralide Fonseca – UNIFAP**

---

**Avaliador: Prof. Dr. Silvia Maria Mathes Faustino - UNIFAP**

---

**Avaliador: MSc. Amanda Almeida - UNIFAP**

## **AGRADECIMENTOS**

Um obrigado (a) aos nossos pais e familiares, por todo o apoio, carinho, dedicação e atenção.

Ao nosso orientador, Dr. Madson Ralide, pelas conversas, orientações, conselhos, e por ter nos recebido e confiado o trabalho executado.

Agradecimentos aos mestrandos, Franci e Caio, que nos receberam, nos orientaram e ajudaram com atenção e conhecimento repassados, que foram que suma importância para a execução do trabalho Obrigada pela paciência conosco.

À equipe INCT Forence, que fizeram parte dessa pesquisa. Os técnicos, acadêmicos que realizaram conosco a execução deste trabalho.

À banca examinadora que nos orientaram de alguma forma na finalização do mesmo.

E a todos que nos ajudaram de alguma forma, a chegarmos até aqui.

## RESUMO

O desenvolvimento industrial da Amazônia, na região norte do Brasil implicou em alguns desastres ambientais o que é um problema enfrentado na região. Por ser uma região rica em diversos minérios, a atividade mineradora é responsável pela maioria dos impactos ambientais, muitas vezes irreversíveis e que atingem de uma forma ou de outra pelo menos uma parcela da população, principalmente ribeirinhos que utilizam a água do rio para consumo em geral, e se houver contaminação dessa água por rejeitos haverá risco de contaminação dessa população. Além de que esses rejeitos se acumulam em animais aquáticos que são fontes de alimentos para população ribeirinha, e dentre esses rejeitos está o metal cobre, que é o elemento traço investigado no estudo dessa contaminação, assim como abordar seus aspectos diversos, desde sua descoberta até suas diversas aplicações. O presente estudo teve como objetivo avaliar o grau de contaminação pelo metal cobre, e avaliar a interferência dessa contaminação na saúde da população local. O estudo contou com a participação de 100 pessoas, sendo 50 expostos e 50 não expostos, os quais foram analisados seus materiais biológicos (sangue e urina) para obter resultados como a concentração de cobre na urina e também analisar marcadores bioquímicos (renais e hepáticos), além da análise da água da região em diferentes pontos. O desfecho constatou evidências de contaminação pelo metal cobre, principalmente nas dosagens desse metal nas fontes de água da região, mas a análise sanguínea e urinária, também mostraram resultados que sugerem contaminação por este metal.

**Palavras-chave:** contaminação da água, cobre, metais pesados, toxicologia ambiental.

## **ABSTRACT**

The Amazon industrial development, in the Northern region of Brazil, resulted in many environmental disasters, which is a local concern. The Northern region is abundant in several ores, thus the mining activities is accountable for most of the environmental disasters, which always will affect the local population, mainly riverside dwellers, because their way of life is directly related to the natural resources, like river water, fish consumption, which most of the contamination due to mining accumulates through the food chain, and among those rejects is the copper metal, which is the trace element investigated in the study of this contamination, as approach yours various aspects, since your discovery, until yours various application. This presented paper objectives to evaluate the contamination degree by copper ore, and analyse the influence of contamination on the local population. The number of participants was 100 peoples, which 50 of them were exposed, and 50 weren't, their biological matters (blood and urine) were analysed in order to obtain results as copper concentration in their urine and also kidney analyse and hepatics biochemical marker. Local water analysis in several collecting points was done. In the end, there were evidences of contamination by copper ore, by pottable water analysis, but also the blood test and urine test also suggests contamination by cooper ore.

**Keywords:** water contamination; copper; heavy metals; environmental toxicology

## LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

BT	Bilirrubina total
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
Cu	Cobre
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DP	Desvio padrão
E.P.I	Equipamento de proteção individual
FAL	Fosfatase alcalina
GGT	Gama glutamiltransferase
ICOMI	Indústria e Comércio de Minérios
ID	Identificação
MRV	Mineração Rio e Norte
LAAB	Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção
TCLE	Termo de Consentimento Esclarecido
TGO	Transamino glutamo oxalética
TGP	Transamino glutamo pirúvica
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>13</b>
3.1	HISTÓRICO DO COBRE.....	13
3.2	O CONTAMINANTE E A O ECOSISTEMA.....	14
3.3	FORMA TÓXICA DO COBRE NA NATUREZA.....	15
3.4	BIOMARCADORES .....	16
3.5	BIOACUMULAÇÃO E BIOMONITORAMENTO .....	17
3.6	FUNÇÕES DO COBRE NO ORGANISMO.....	18
3.7	DEFICIÊNCIA NO METABOLISMO DE COBRE.....	19
3.8	COBRE NOS ALIMENTOS E NA ÁGUA .....	20
3.9	LIMITES DE TOLERÂNCIA NA INGESTÃO DE COBRE.....	21
3.10	ABSORÇÃO E EXCREÇÃO DE COBRE PELO ORGANISMO.....	22
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>24</b>
4.1	ÁREA DE ESTUDO.....	24
4.2	TIPO DE ESTUDO.....	24
4.3	CRITÉRIO DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	25
4.4	AMOSTRAGEM.....	25
4.5	COLETA DE ÁGUA.....	25
4.6	COLETA DE SANGUE.....	27
4.7	COLETA DE URINA.....	27
4.8	AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA.....	27
4.9	TRATAMENTO DE DADOS.....	27
4.10	ASPECTOS ÉTICOS.....	28
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
5.1	RESULTADO DA ANÁLISE DA ÁGUA.....	29
5.2	RESULTADO DA ANÁLISE DO METAL COBRE NA URINA.....	30
<b>5.2.1</b>	<b>Resultado do grupo feminino.....</b>	<b>30</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Resultado do grupo masculino.....</b>	<b>31</b>
5.3	ANÁLISE DE MARCADORES BIOQUÍMICOS HEPÁTICOS.....	32

<b>5.3.1</b>	<b>Resultados do grupo feminino.....</b>	<b>32</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Resultados do grupo masculino.....</b>	<b>37</b>
<b>5.4</b>	<b>ANÁLISE DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS RENAI.....</b>	<b>42</b>
<b>5.4.1</b>	<b>Resultados do grupo feminino.....</b>	<b>43</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Resultado do grupo masculino.....</b>	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento industrial tem contribuído para o despejo de metais pesados, principalmente na água, o que acaba poluindo devido ao não tratamento da água, dentre eles estão os metais que, lançados à natureza contribuem para a alteração da concentração equilibrada na natureza dos mesmos, provocando impactos físicos, biológicos e socioeconômicos, uma vez que são tóxicos, apresentando riscos e danos à saúde humana a fauna e a flora local (RAMOS, 2013).

Na região amazônica, os últimos trinta anos foram marcados pela implementação de empreendimentos produtivos adotados através de planos e políticas de desenvolvimento pelo governo federal, com destaque para os grandes projetos de mineração. Entre os mais importantes estão o da mineração Rio do norte (MRN), Albrás, Alunorte, ferro-carajás, projetos de caulim no Amapá, e região do capim, no estado do Pará, e um dos mais antigos, a atuação da indústria e comércio de minérios S/A (ICOMI), explorando minérios de manganês na serra do navio,, no estado do Amapá (LIMA et al, 2007).

Tratando-se de metais pesados, eles podem ser encontrados no solo, ar, lixo, alimentos e sedimentos, mas é a indústria a principal responsável pelo lançamento de metais à natureza , contaminando as águas, plantas e animais, pois os metais possuem níveis elevados de reatividade e bioacumulação, provocando reações químicas diversas, não metabolizáveis, acumulando-se ao longo da cadeia alimentar, podendo causar danos ecobiológicos irreversíveis (RAMOS, 2013), principalmente quanto ao efeito tóxico em alimentos para consumo humano, como o provocado pelo acúmulo do metal cobre nas guelras de peixes. (OGA, 2014).

O objetivo do estudo é analisar resultados de análise clínicas (bioquímicas) do sangue (soro) de pacientes com e sem exposição à rejeitos de minérios e também de analisar quantitativamente o teor de cobre (Cu) nas águas do rio que abastece a comunidade no bairro do Elesbão, município de Santana-AP, com intuito de mostrar uma possível relação de contaminação dos moradores da localidade em questão, através dos resultados obtidos. Isso tudo com evidências científicas comprovadas a respeito de alterações biológicas por contaminação cúprica, e também referências sobre limites de tolerância na exposição por esse agente. O metal cobre inclui-se entre os metais contidos nos rejeitos de minério deixados por uma mineradora há alguns anos no local, e com a proximidade do rio da comunidade, o transporte pelo vento tende a depositar cada vez mais resíduos de metais na água, sendo o rio a principal fonte de utilização de água nessa área por conta da maioria dos moradores do bairro

não possuem acesso a água tratada, faz com que essas pessoas diariamente tenham contato com a água. Podendo ser um possível meio de veiculação contaminada. A água utilizada, mesmo com tratamento, pode gerar uma contaminação crônica, se ali estiver presente traços de metais.

## **2 OBJETIVOS GERAIS**

Analisar o grau de contaminação pelo mineral cobre, nas águas da comunidade do Elesbão, e analisar a possível interferência dessa contaminação na saúde da população local.

### **2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Quantificar a concentração de cobre nas águas da comunidade e comparar com valores de referências.
- Avaliar a presença de cobre na matriz biológica urina da população estudada, através do método de absorção atômica.
- Avaliar os resultados dos marcadores bioquímicos hepáticos e renais nas amostras de soro dos pacientes expostos e não expostos à rejeitos.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 HISTÓRICO DO COBRE

O cobre é um metal que há muito tempo reconhecido pelo homem. Objetos de sua utilização foram encontrados no norte do Iraque e são datados de 8.500 a.c. (KNUTON, 1986), o metal contribuiu para a constituição de culturas e civilizações através de seu uso em manufatura de ferramentas e utensílios em geral devido ser facilmente encontrado. No período pré-histórico, a liga metálica de cobre marcou a época como idade do bronze, sendo utilizada por egípcios e gregos em arte e arquitetura, entretanto foram os romanos que utilizaram mais intensamente o metal, tais como adornos pessoais, objetos domésticos e armas pessoais. (SARGENTELLI, Vagner et al. 1995) os romanos também sabiam o seu emprego também como sal de cobre muito utilizado em seus rituais de comilança. Em história mais recente, esse metal teve importância no desenvolvimento de vários países, como os E.U.A, exemplo disso era a moeda de circulação no país na época do governo de Benjamim Franklin e também grandes edificações como a estátua da liberdade (BATTISTA, 1969). Durante muito tempo a atividade de mineração deste elemento significou poderio econômico em um país andino, onde nos anos 70 em que eram considerados os “donos do cobre” os donos do Chile(GALEANO, 1992). Nos dias atuais, o cobre é utilizado nas suas diversas empregabilidades e formas, como liga, fios elétricos, canos, radiadores de automóveis, entretanto seu comportamento bioquímico vem despertando interesse com a descoberta de sua função em compostos de coordenação, embora a bioquímica foque na sua função em proteínas do organismo como a ceruloplasmina, tirosinase, citocromooxidase, existe hoje o conhecimento que esse metal está relacionado ao organismo de forma geral sendo suas variações podendo causar transtornos e enfermidades (SARGENTELLI, Vagner et al. 1995).

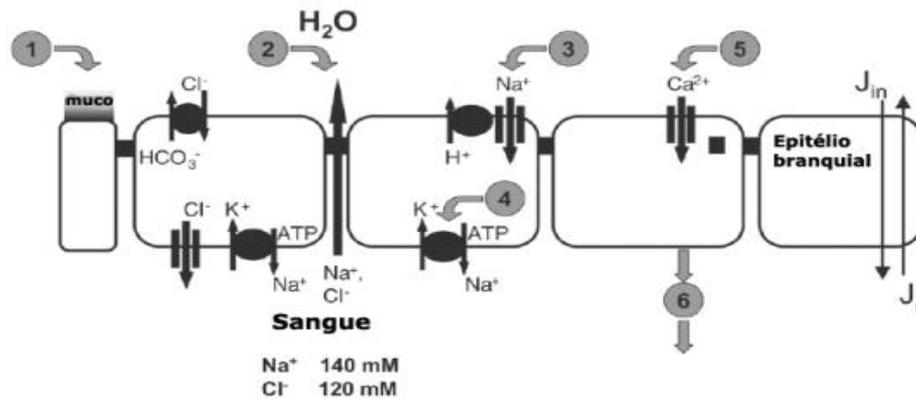
No reino vegetal o cobre foi identificado em cinzas de plantas em 1816, por bucholtz, e em 1817 por meissner, sua presença em animais foi identificada somente em 1830 por sarzeau que encontrou através de um estudo com utilização de sangue de boi, que na época foi interpretado como contaminação do sangue pelos nutrientes do solo. Porém em 1847 Harless demonstrou que no sangue de moluscos encontrava-se naturalmente o elemento químico cobre como componente.(COMAR, 1968).

### 3.2 O CONTAMINANTE E O ECOSISTEMA

A presença de um toxicante no meio ambiente não é condição *sine qua non* para promoção e observação de um efeito nocivo. A expressão de uma toxicidade de uma substância química depende de suas características de exposição e de seu comportamento no meio e/ou no organismo, relacionados ao mecanismo de transporte e de interação com sítios ou organismos alvo (SLOMAN et al 2002). Além de suas propriedades físico-químicas, deve-se considerar a magnitude, duração e a frequência de exposição, via de introdução e suscetibilidade dos sistemas biológicos - intra e interespécies, este último diretamente interligado aos processos toxicocinéticos e dinâmicos (SLOMAN et al 2002). Esses parâmetros exceto a susceptibilidade individual, determinam a disponibilidade química da substância (concentração disponível no ambiente para interagir nos sistemas biológicos) e devem ser considerados na avaliação de risco de exposição a um determinado toxicante (ERICKSON et al 1996). Alguns autores diferenciam poluentes de contaminantes, o termo poluente é utilizada quando a substância química causa, um efeito nocivo sobre o ambiente, ou seja, encontra-se em concentrações acima do limite de referência (background) e disponível para interagir com o ecossistema, do contrário trata-se de um contaminante, no entanto cada substância pode nas mesmas condições de exposição, ser tóxica para alguns e não ser tóxica para outros, desse modo ele é contaminante para uma espécie e poluente para outro(OGA, 2014).

O contaminante ambiental onde quer que esteja no meio ambiente, só irá ter algum efeito tóxico quando estiver em uma determinada concentração com potencial tóxico ao meio, e a concentração final e a disponibilidade química de alguns metais contaminantes irá resultar de dois fatores, o seu potencial de degradação e transporte no meio ambiente, que dependerá de vários fatores, sejam eles fatores intrínsecos como: hidrossolubilidade, estado físico, valência, ou fatores extrínsecos sejam eles biológicos, físicos ou químicos como: pH, potencial de oxirredução, força iônica, atividade da biota, temperatura e da presença de cátions competidores (cálcio, ferro, magnésio por exemplo), (PAQUIN, 1999).

**Figura 1:** Diagrama esquemático ilustrando alguns mecanismos de interação de metais com sítios ativos nas brânquias de peixes, que resultam em efeitos tóxicos para estes organismos:



Fonte: Paquin et al. (2002).

O metal cobre é um exemplo de contaminante ambiental, apesar de ser um nutriente essencial para o organismo humano, sendo que o cobre tem uma característica de possuir uma pressão de vapor baixa, não atua portanto como poluente da atmosfera, pela não ter a tendência de se apresentar no estado gasoso, restringindo-se a contaminação da água e do solo. Na contaminação deste metal em ambiente aquoso, alguns fatores exclusivos do ambiente aquático podem interferir na sua disponibilidade de metais (fração livre) que é o estado químico que possui o efeito tóxico, a presença de materiais orgânicos como o ácido fúlvico e o ácido húmico, em pH ácido e no meio aquoso ocasiona o fenômeno da complexação (uma reação de adição) de qualquer metal que estiver ali disponível naquele ambiente. Já em ambientes com baixas concentrações dessas matérias orgânicas, o metal cobre pode ser encontrado complexado com substâncias inorgânicas como na forma de carbonato e complexado à hidróxidos (CuCO<sub>3</sub>) e (Cu (OH)<sub>2</sub>) respectivamente, e a dureza da água (água com alta concentração de cálcio), também está relacionado ao fenômeno da complexação deste metal (PAQUIN et al, 2000).

### 3.3 FORMA TÓXICA DO COBRE NA NATUREZA

O efeito do pH, e alcalinidade contribuem para o efeito de toxicidade do cobre em peixes, e é consistente com a ideia de que a toxicidade é diretamente proporcional a concentração de íons cobre no meio, um possível mecanismo sugerido por autores é que a toxicidade se deve a ligação do cobre aos locais fisiologicamente ativos nas brânquias de peixes (PLAYLE et al 1993) peixes com elevado acúmulo de cobre no tecido branquial foram

prejudicados em sua capacidade de absorver sódio, um nutriente necessário no ambiente. Estudos determinam que o acúmulo de cobre branquial está inteiramente relacionado à sua concentração iônica no meio e não na sua forma complexada, que causa uma diminuição de sua toxicidade ao meio (PAQUIN, 2000). Aumentos da dureza com a adição de cálcio, também reduz a toxicidade para peixes (ERICKSON et al, 1996). no entanto a adição de cálcio não afeta a disponibilidade de íons cúpricos, em vez disso o efeito protetor do cálcio foi atribuído na sua competição com íons cobre em locais de ligação fisiologicamente ativos de membranas branquiais (PLAYLE et al 1993). A acumulação de cobre nesses locais, é portanto inibida pela presença de concentrações elevadas de cálcio e essa inibição resulta em toxicidade reduzida, efeitos similares sobre a acumulação do local de ação foram relatadas pela prata (JANES E PLAYTE 1995) e para outros organismos e para outros metais em resposta a adição de cálcio (MEYER et al 1998).

### 3.4 BIOMARCADORES

O uso de conchas no monitoramento de metais, é a medição direta de metais, em estudos com amostras dissolvidas ou em pó, para gerar dados de elementos principais, secundários e vertiginais a sensibilidade desses testes depende fortemente da sensibilidade dos métodos geoquímicos aplicados (BELLOTTO E MIEKELEY, 2007). No passado houve tentativas de utilização de esclerocronologia e geoquímica de conchas em estudos das condições ambientais, assim como no presente, como bandeira de escleroquímica (GROCKE e GILLIKIN, 2008). Nesse caso as conchas fornecem um arquivo do registro do metal, que possa está relacionado ao ambiente com graus variados de confiança. Faltando uma relação simples entre a química da água ambiente e a geoquímica das conchas, devido a influência de vários fatores (HUANXIN et al. , 2000; RAMMOLL e ROMANEK, 2008; BROWN et al 2005) demonstraram que conchas de mexilhões mortos também podem ser utilizados para análise de metais, após a análise geoquímica, isso parece ser mais aplicável para consideração no campo da bioabsorção, ou seja, um conjunto de aplicação de conchas moluscos em pó ou calcinadas em purificação de águas residuais.

Até onde sabe-se, o primeiro estudo de metais baseados em uma abordagem, foi publicada por Bonhem, 1965, que utilizaram a auto radiografia para reconhecimento preciso de níveis de  $^{90}\text{Sr}$ , ricos na matriz de casca de *Tridacna Gigas L.* da mesma forma, marcadores químicos de crescimento *in situ* (radionuclídios, calceína, vermelho de alizarina, manganês)

tem sido amplamente utilizados em estudos de laboratório para criar camadas “carimbo de data”, nas seções de casca visível por autorradiografia, fluorescência e cotodoluminescência. (HAWES et al.,1996; RIASCOS, 2007; ZUYKOV et al 2009). Os avanços dos estudos escleroquímicos foram bastante facilitados por utilização de técnicas analíticas precisas, por exemplo, partículas de micro feixes, espectrofotometria de absorção de raio X induzida, ablação à laser, espectrofotometria de massa plasmática indutivamente acoplada e espectrometria de massa de íons secundários.

### 3.5 BIOACUMULAÇÃO E BIOMONITORAMENTO

Os moluscos bivalentes, como organismos filtros de alimentação, são capazes de concentrar em seus tecidos moles vários contaminantes da atmosfera e da água devido ao processo de bioacumulação; substâncias estranhas podem ser incorporados em conchas durante o crescimento ou através da adsorção da adsorção passiva de sua superfície através do fluido extrapalial e da coluna de água. A bioacumulação de vários metais foi demonstrada na literatura para várias espécies de bivalves (moluscos), os fatores responsáveis pela taxa de bioacumulação em bivalentes tem explorados repetidamente em estudos de laboratório (PHILIPS, 1980; LANGSTON e SPENCE, 1995; RAINBOW e LUAMA, 2011)

As vantagens e dificuldades no trabalho com moluscos como indicadores de biológicos quantitativos para o monitoramento de poluição por metais aquáticos tem sido discutida em muitas revisões. O fato é que os metais se acumulam de forma diferente nos tecidos moles e nas conchas (SZEFER e SZEFER, 1990.), porém não existe uma posição única sobre seu uso apenas em tecidos moles, ou apenas em conchas ter alguma preferência no monitoramento de metais, mas o uso de tecidos em vez de conchas recebem mais atenção dos pesquisadores, principalmente devido a conformidade do monitoramento costeiro dos EUA , “Mussel watch” esquema que apoiava uma avaliação das tendências regionais, ou temporais da poluição química na interface entre o exterior, costa e oceano (GOLDBERG et al. 1975; GOLDBERG 1978; FARRINGTON et al, 1983). Utilizou-se camadas de concha separadas, ou seja, o perióstraco, como material para medição de metais em estudos de monitoramento, porém na década de 1970, foi demonstrado claramente que independente de sua preservação, cada invólucro não é homogêneo em relação a concentração de metais através das superfícies internas e externas, bem como parte central (STURESSON, 1976), colocado neste contexto, a superfície da concha (sem atividade metabólica), tem capacidade de adsorver metal da água,

atingindo concentrações maiores do que aquelas encontradas em tecidos moles e outras camadas da concha; a adsorção de metais na parte interna da concha pode ser negligenciada (HAMILTON e CLIFTON, 1980; MCDONALD et al, 1993; ZUYKOV et al 2009). Conseqüentemente a preservação da superfície do invólucro e não sua composição química e mineral desempenha um papel importante na adsorção e particularmente na concentração de metal medida na casca (ZUYKOV, 2012), no entanto conchas de bivalves vivos possuem mecanismos químicos de defesa (por exemplo, biofilme, composto repelente desconhecido) de “defesa” para impedir incrustações em superfície externa da concha (SCARDINO, 2003), seu papel na absorção do metal permanece desconhecida. Também é importante notar que existem grandes coleções desses moluscos (por exemplo, búfósseis) em museus mundiais e que poderia contribuir para estudos ambientais como fonte de materiais pré-industriais, a este respeito concluíram que existem diferenças na concentração desses metais nos tecidos de espécies frescas e as conservadas, (SENG SUN, 2001).

### 3.6 FUNÇÕES DO COBRE NO ORGANISMO

O cobre está presente nos sistemas biológicos com estado de oxidação de +1 e +2. Oligoelemento essencial para síntese de hemoglobina, é constituída de citocromo c-oxidase, da tirosinase, da monoamino-oxidase, da ácido ascórbico-oxidase da uricase, da galacto oxidase, e da aminolevulinato-desidratase. A presença de anormalmente baixos resultam em diminuição na produção e no tempo de sobrevivência dos eritrócitos e em catabolismo reduzido pelas enzimas que contem cobre. (LIVRO DE BIOQUÍMICA) dentre as funções do cobre no organismo está a defesa contra radicais livres (TAINER et al, 1983, HARRIS, 1992) metabolismo de ferro (LINDER, 1996). A necessidade biológica de cobre é devido a grande especificidade de ligação a proteínas estruturais e enzimáticas (LINDER e HAZEGH-AZAM, 1996). A função do cobre nas atividades enzimáticas de oxidar e reduzir é em consequência da sua capacidade para funcionar como um intermediário da transferência de elétrons entre as moléculas. (EHC 200, 1998). A tirosinase é uma proteína não estrutural em que cobre se liga e provoca o metabolismo de oxidação do aminoácido tirosina e, por sua vez, desencadeia reações que produzem melanina, uma proteína responsável pelo pigmento da pele, do cabelo e dos olhos, além de promover a proteção contra a exposição a raios UV. A dopamina- $\beta$ -monooxigenase ou hidroxilase é a enzima chave na produção de catecolaminas (converte a dopamina em norepinefrina), que atuam como neurotransmissores no sistema nervoso central

Esta enzima apresenta dois átomos de cobre em cada uma das suas quatro subunidades (LINDER e HAZEGH-AZAM, 1996).

A superóxido dismutase é uma enzima que contém cobre e zinco e catalisa a decomposição do ânion superóxido - O<sub>2</sub> na reação  $2O_2 + 2H_2 \rightarrow H_2O_2 + O_2$ , sendo portanto, um componente do sistema de defesa do organismo contra geração de radicais livres; o que fundamenta a função antioxidante do cobre (BALEYSKA et al., 1981; TAYLOR et al., 1988). Estudos conduzidos em ratos com deficiência de cobre dietário constataram decréscimo nos níveis desta enzima em pulmão, fígado, aorta e eritrócitos (DAMERON & HARRIS, 1987; CARVILLE & STRAIN, 1989). Em humanos, foi demonstrado que o diabetes mellitus propicia o aumento de glicosilação da Cu-Zn SOD (Cobre-Zinco Superóxido Dismutase) dos eritrócitos prejudicando portanto sua atividade (ARAI et al., 1987); baixos valores desta enzima também foram divulgados em outro estudo com pacientes com Diabetes Tipo 1 (HAGGLOF et al., 1983).

A biossíntese de norepinefrina depende em parte da cuproenzima-dopamina β-hidroxilase. Baixo nível de norepinefrina foi verificado em cérebro de ratos neonatos deficientes em cobre (PROHASKA & WELLS, 1974), quadro este que pode ser revertido diante da terapia com cobre, segundo observações de outros autores (MILLER & O'DELL, 1987). Estes baixos níveis de norepinefrina observados em órgãos, e a alta excreção urinária de dopamina e norepinefrina em estudos com ratos e camundongos, sugerem uma combinação de síntese diminuída e turnover aumentado destas catecolaminas (PROHASKA et al., 1990). Outros distúrbios neurológicos têm sido relatados em animais com deficiência de cobre, tais como diminuição de mielinização associada à ataxia (DI PAOLO et al., 1974), alterações histológicas no cérebro e no corpo estriado (CARLTON & KELLY, 1969).

### 3.7 DEFICIÊNCIA NO METABOLISMO DE COBRE

O cobre é transferido no plasma pela ceruloplasmina (80% a 95% do total). Várias são as relações clínico patológicas do metabolismo do cobre. A Deficiência de cobre em crianças é encontrada em prematuridade absorção, desnutrição diarreia crônica, hiperalimentação, alimentação prolongada com cobre reduzido, dieta com leite e derivados (WIDDOWSON., et al 1964,1974; SUTTON et al., 1985; DAUNCEY et al., 1977; BRONNER, 1964). Os sinais de deficiência de cobre incluem: anemia hipocrômica, neutropenia, que responde ao cobre oral, mas não ao ferro, osteoporose (deficiência na

formação de ligação cruzada de colágeno (WILLIAMS, 1983; HELLER, 1978; MASON, 1979) redução da pigmentação da pele; e, nos estágios adiantados, anormalidades neurológicas (hipotonia, apneia, retardo psicomotor) (DANKS, 1988). Síndrome de Menkes (do pelos retorcidos) é a forma extrema de deficiência de cobre, um defeito genético recessivo ligado ao sexo. É uma síndrome fatal com degeneração cerebral e cerebelar, anormalidades no tecido conectivo e pelos retorcidos. Tanto o cobre como a ceruloplasmina séricos estão reduzidos, com conteúdo hepático de cobre bastante reduzido. A absorção de cobre é bastante deficiente, assim como o tratamento parenteral. Outro exemplo é a doença de Wilson (degeneração hepatolenticular). Esta rara desordem hereditária recessiva, caracteriza-se por deficiência no metabolismo e no armazenamento do cobre e ocorre com disfunção hepática progressiva, que pode ser acompanhada de distúrbios neuropsiquiátricos (DANKS, 1983). Afeta também a córnea, o rim e o cérebro, atingindo igualmente homens e mulheres. Quantidades enormes de cobre são ingeridos, porém o fígado é incapaz de excretar pela bile, o que leva seu acúmulo no fígado, no cérebro, nos olhos e nos rins. Após vários anos de acúmulo de cobre, o tecido hepático funcional é destruído devido aos efeitos tóxicos do metal, resultando em quadro semelhante à hepatite viral crônica. Os sintomas são principalmente devido a doenças hepáticas e alterações degenerativas na gânglia basal, os níveis de ceruloplasmina estão quase sempre baixos, mas ainda não está claro como isso se relaciona com a doença. Com relação a outros resultados de exame feitos para a detecção da doença, encontram-se níveis elevados de cobre na urina e baixas concentrações no sangue (MOTTA, 2009).

### 3.8 COBRE NOS ALIMENTOS E ÁGUA

A concentração deste metal nos alimentos varia de acordo com o tipo de processamento que teve o produto alimentício, mesmo antes da indústria, desde o seu cultivo, considerando as condições do solo no caso de alimento proveniente da agricultura, condições climáticas da região, que podem forçar o cultivo de diferentes formas de região para região, considerando aspectos como qualidade da água utilizada, uso de fertilizantes e fungicidas que contenham cobre (PEDROSO e LIMA, 2001). A ingestão média de cobre através da dieta varia, normalmente, entre 0,9 e 2,7 mg por dia. Esta diferença está nas diferentes culturas alimentares de cada região do mundo e também no tratamento agrícola como referido anteriormente. Em alguns casos o consumo de água pode contribuir de forma adicional para a ingestão diária total de cobre, particularmente em habitações mais antigas pela corrosão das canalizações (WHO,

2004). A água é uma substância que participa em média, na contribuição de 10% da ingestão de cobre na dieta, níveis de 2 mg/L é considerada segura (FITSGERALD, 1998, WHO, 2004). Há ainda alguns alimentos naturais, considerados como fonte de cobre, por exemplo, mariscos, fígado, rim, nozes e leguminosas secas, e o chocolate como um industrializado (PEDROSA COZZOLINO, 2001; ANDERSON, 2002). Sendo, o teor o mais importante para a biodisponibilidade, mas sua complexação com outras substâncias químicas, e a sua própria forma química, interferem na biodisponibilidade, metais como o ferro, mobilidênio e principalmente zinco são exemplos de metais que afetam a biodisponibilidade do cobre. Segundo WHO, o limite inferior do intervalo aceitável de ingestão de cobre é de 12,5 µg/kg/dia, considerando que são necessidades diferentes entre indivíduos adultos e crianças, e também existem variações, como as que interferem na absorção, retenção e armazenamento, que foram ditas anteriormente. Para crianças este valor é de 50 µg/kg/dia. A IOM recomenda um limite máximo para a ingestão de cobre em adultos de 10 mg/dia seja por alimentos ou outros meios de ingestão de cobre, como água e suplementos (WHO, 2004).

### 3.9 LIMITES DE TOLERÂNCIA NA INGESTÃO DE COBRE.

Quanto à interferência da contaminação ambiental nos níveis de cobre no organismo, o metal cobre como já dito por fazer parte da dieta humana, ou seja, ser considerado um micronutriente, pode ser tolerado em certas concentrações, mas quando ultrapassado gera efeito tóxico. A sua excreção é diretamente proporcional à ingestão. Existe uma regulação da concentração de cobre no organismo, cujo efeito reflete na absorção e excreção endógena que controla a quantidade retida no organismo, protegendo da carência ou efeito tóxico desse mineral (Turnlund, 1999).

**Tabela 1:** Indicando os limites de tolerância na ingestão de cobre em cada espécie apresentada.

Espécie	Teores de cobre (ppm)
<b>Aves</b>	1.100
<b>Rato, Homem</b>	1.000
<b>Pôners</b>	800
<b>Outros equideos</b>	500
<b>Bovinos Adultos</b>	400
<b>Suínos</b>	350
<b>Caprinos</b>	125
<b>Gatos</b>	50
<b>Cães</b>	35
<b>Ovinos</b>	15

Uma ingestão diária tolerável é definida como a quantidade de uma substância presente nos alimentos ou na água de consumo alimentar, expressa num peso corporal base, que pode ser ingerida diariamente, por um período indefinido e sem riscos apreciáveis para a saúde. Isto justifica o valor escolhido para a ingestão diária tolerável o qual foi proposto pelo princípio de que não suscitaria quaisquer problemas em termos de saúde humana (Fitzgerald, 1998).

### 3.10 ABSORÇÃO E EXCREÇÃO DO COBRE NO ORGANISMO

Nos mamíferos, o cobre é absorvido no estômago (ao contrário de outros metais) e no intestino delgado, no entanto parecem existir diferenças entre várias espécies no que diz respeito ao local de absorção máxima no trato gastrointestinal. Em ratos, o cobre é absorvido a partir do estômago e duodeno, enquanto que nos hamsters a absorção ocorre no íleo e no jejuno. O local de absorção máxima é desconhecido nos seres humanos, contudo presume-se que ocorra no estômago e no intestino delgado proximal devido a rápida modificação sérica de cobre no plasma após ingerir alimentos contendo cobre. A contribuição do estômago parece, no entanto, ter menor importância devido à digestão incompleta dos alimentos neste órgão (SCHÜMANN et al., 2002). A absorção varia entre 15 e 97%, dependendo do conteúdo de cobre e da composição da dieta alimentar que pode conter ou não metais que quelam o cobre

(TURNLUND, 1998). O cobre é absorvido principalmente no intestino, sendo a absorção proporcional à ingestão (WAPNIR, 1998). Quando em baixas concentrações há limitações no processo de absorção (difusão) devido só utiliza-se o transporte passivo na membrana celular do endotélio quando a substância tiver em altas concentrações no organismo. Dentro do enterócito é retido por ligantes aminoacídicos e pela metalotioneína, que são responsáveis não pela sua captação, mas pelo controle de sua liberação na corrente sanguínea, controlando assim um processo de intoxicação (DICHI, BURINI, 1991; PEDROSA, COZZOLINO, 1999; TAPIERO et al, 2003), após isso é levado ao fígado, retido junto às proteínas e enzimas (LINDER et al 1998).

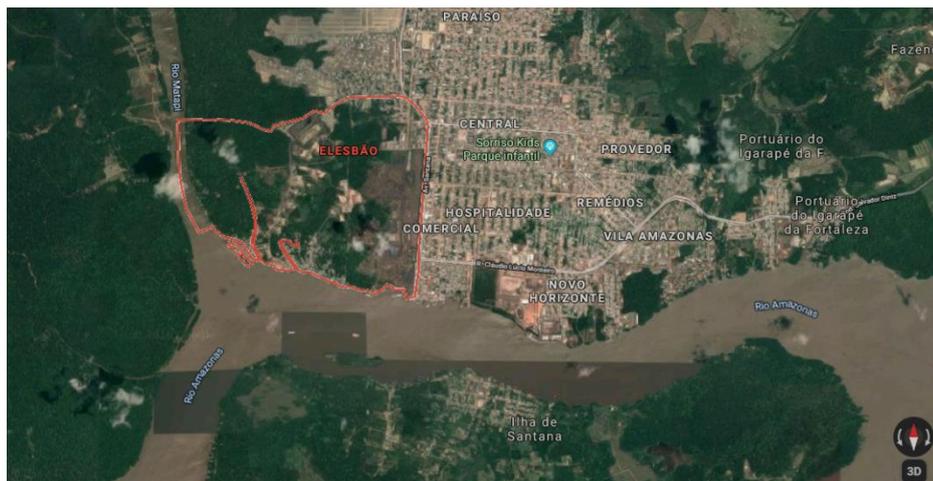
A sua principal via de excreção é a biliar, dificilmente sendo reabsorvido, (LINDER et al 1998). Possuindo cobre outras vias de eliminação como a urinária, pela sudorese e as vias tegumentares, sendo pouco expressivas, sendo isso mais um dos mecanismos de regulação do cobre (TURNLUND, 1998). Isso reflete um mecanismo regulador de excreção do cobre por meio de diferentes órgãos ou glândulas excretoras, agindo então contra intoxicação. A fração de cobre que é excretado por essas vias, é antes absorvido por células (enterócitos, hepatócitos) e no citosol é ligado à um conjunto de proteínas citoplasmática e peptídeos solúveis, das quais são metabolizados e transportados conseqüentemente para serem utilizados, ou em até certas concentrações acima do normal são excretados inteiramente (HARRIS, 2000).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado com moradores residentes no bairro Elesbão (Figura 1) no município de Santana do Estado do Amapá, sendo chamados de grupo exposto. O município de Santana possui uma área de 1.569,404 Km<sup>2</sup>, com estimativa de 101.262 habitantes. De acordo com o IBGE, 2010, a população do Bairro Elesbão possui cerca de 4.737 habitantes, dentre os quais 2.405 representam a população masculina e 2.332 representam a população feminina. No grupo não exposto ao cobre ou grupo controle participaram homens e mulheres, também voluntários que residiam no município de Macapá ou em outros bairros de Santana/AP.

**Figura 2:** Ilustração da localização do Bairro Elesbão – Santana/AP



Fonte: Google Maps

### 4.2 TIPO DE ESTUDO

Este estudo define-se como retrospectivo 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 das moradoras do Elesbão expostas ao rejeito do mineral (cobre).

#### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

As participantes do grupo exposto da pesquisa tinham um tempo mínimo de moradia de 10 anos na área estudada e idade entre 18 e 65 anos. E as do grupo não exposto, além da faixa etária mencionada acima não residiam no local de estudo.

Não participaram da pesquisa os fumantes e os que tinham contato ocupacional com metais pesados, como os que trabalhavam em fábricas de baterias, de cerâmica, os com atividades de jateamento, fundição, cortes e polimento de metais, dentre outros.

#### 4.4 AMOSTRAGEM

Os participantes da pesquisa tinham entre 18 e 65 anos e após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE, responderam a um questionário sócio econômico contendo 44 perguntas para então fazer a coleta de sangue, e entregar a urina, quando este o desejasse.

Foram selecionadas 100 amostras de sangue, sendo 25 de mulheres e 25 de homens moradores do bairro Elesbão, e, portanto, expostos aos rejeitos de minérios e de 25 mulheres e 25 homens não expostos, moradores do município de Macapá ou de outros bairros do município de Santana, que após passarem pelo critério de exclusão,

A aplicação dos questionários e as coletas, foram realizadas na UBS do bairro Elesbão e no Laboratório de Análises Clínicas 2 da Universidade Federal do Amapá, no período de novembro de 2018 a junho de 2019. Das amostras de sangue, foram realizados exames laboratoriais para análise bioquímica, mas apenas 46 mulheres doaram urina. A análise do metal cobre na urina foi realizada no Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção (LAAB) da Universidade Federal do Amapá.

#### 4.5 COLETA DE ÁGUA

Foram coletadas amostras de 1 litro de água no período chuvoso do ano, em 10 pontos diferentes do bairro (Figura 3), incluindo igarapés (a uma profundidade de 20 cm da superfície), Rio Amazonas, unidade de abastecimento local e outros pontos. Recipientes plásticos apropriados, devidamente identificados e previamente preparados com ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), foram utilizados nesta coleta.

As amostras foram armazenadas, em caixa térmica, com gelo seco durante a coleta e transporte para o laboratório, onde permaneceram sob refrigeração entre 4° - 8°C, até o momento da análise. O preparo das amostras seguiu os padrões estabelecidos pela APHA (2012).

Após homogeneização e filtração, uma alíquota de 15 ml de água de cada ponto coletado, foi separada em tubos graduados e colocados no equipamento Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Chama (F-AAS), modelo AA-6300 para determinação do metal Cobre (Cu) no Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção (LAAB) da Universidade Federal do Amapá (LIMA, 2013; LIMA et al, 2015).

Para utilização do referido equipamento foram determinadas curvas de calibração para o metal analisado, a partir de soluções padrões certificados para AAS fornecido pelo Instituto Nacional para Ciência e Tecnologia dos Estados Unidos da América (NIST-USA).

Após determinação da curva de cada metal, as análises foram realizadas em triplicata e o resultado expresso em ppm (partes por milhão). As Concentrações Máximas Permitidas (CMP) do metal em água doce, estão estabelecidas na Resolução CONAMA nº 357 de março de 2005.

**Figura 3:** Ilustração dos pontos de coleta de água no Bairro Elesbão – Santana/AP



Fonte: Adaptação de Google Maps

#### 4.6 COLETA DE SANGUE

O método de escolha foi punção venosa à vácuo, após antissepsia no local da retirada com álcool 70%, utilizando tubos específicos e identificados, para análise bioquímica, sendo as amostras acondicionadas verticalmente em estantes e transportadas em caixa térmica sob refrigeração até o laboratório de Análises Clínicas.

Os tubos para análises bioquímicas tinham capacidade para 6 ml com gel separado (BRASIL, 2010; RAMOS, 2013).

#### 4.7 COLETA DE URINA

Após orientação do procedimento de coleta, as amostras de urina foram coletadas pelas participantes da pesquisa em frascos coletores próprios, de 80 mL cada, devidamente identificados. As amostras foram armazenadas, em caixa térmica, contendo gelo seco, e transportada para o laboratório, onde permaneceram congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise (RAMOS, 2013).

#### 4.8 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA

As amostras de sangue para as análises bioquímicas foram coletadas em tubos específicos sem anticoagulante e com gel separador. Após a coagulação do sangue, este foi submetido à centrifugação para separação dos soros que então foram utilizados para as análises dos testes no analisador automático LANDWIND LW C200i com kits de reagentes Labtest. Foram realizadas dosagens enzimáticas de uréia, creatinina para avaliação renal, Aspartato Aminotransferase (AST/TGO), Alanina Aminotransferase (AST/TGP), Fosfatase Alcalina (FAL), Gama Glutamil Transferase (GGT), Bilirrubina Total e Frações, para avaliação hepática.

#### 4.9 TRATAMENTO DOS DADOS

Dados foram tabulados em planilha Excel e os cálculos do valor de p pelo método anova de via única, juntamente com os gráficos, foram realizados pelo mesmo programa da Microsoft Excel 2016.

#### 4.10 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo acatou as condições dispostas na resolução 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, e foi submetido à avaliação do comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal do Amapá mediante registro na Plataforma Brasil.

A descrição dos processos e das técnicas utilizadas foi encaminhada e aprovada pelo comitê de Ética e Pesquisa da UNIFAP. O termo de consentimento esclarecido (TCLE) foi assinado pelas pessoas que aceitarem participar da pesquisa. O TCLE possuía por escrito todas as orientações e informações necessária, de forma simples e clara. Houve também um questionário, com o objetivo de fazer um levantamento socioeconômico do grupo familiar dos pacientes.

Os participantes tiveram a oportunidade de aceitar a sua inclusão no estudo, através de assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, o que permitiu o uso de alíquotas de sua amostra biológica para análise, assim como a utilização de informações obtidas nos questionários que possuíam relevância para os objetivos da pesquisa. Os participantes receberam uma cópia do termo de consentimento livre e esclarecido, onde constataram informações de identificação e contato dos pesquisadores, para solucionar dúvidas que possam surgir durante o andamento da pesquisa.

Todas as fases do projeto foram devidamente explicadas aos voluntários, de forma objetiva e detalhada, incluindo seus benefícios e riscos, assegurando ao voluntário que o sigilo de seus dados pessoais e sua privacidade iriam ser completamente protegidos. O participante teve a liberdade de não fazer parte da pesquisa e também de sair da qualidade de participante do estudo, em qualquer período, sem aplicação de penalidades.

A presente pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), através do parecer nº 2853167 e nº CAE 94256218.0.0000.0003 em 18 de julho de 2018.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RESULTADO DA ANÁLISE DA ÁGUA

**Tabela 2:** Resultados da média e desvio padrão da concentração do metal cobre analisado nos 10 pontos do bairro Elesbão, no período chuvoso da região.

<b>Ponto de coleta</b>	<b>Cu (ppm)</b>	<b>DP ( Cu)</b>
<b>CONAMA*</b>	0,009	-
<b>Ponto 1</b>	0,0339	0,0181
<b>Ponto 2</b>	0,0485	0,0179
<b>Ponto 3</b>	0,0145	0,0146
<b>Ponto 4</b>	0,0226	0,0126
<b>Ponto 5</b>	0,0178	0,0112
<b>Ponto 6</b>	0,0259	0,0106
<b>Ponto7</b>	0,0129	0,01
<b>Ponto 8</b>	0,0194	0,0095
<b>Ponto 9</b>	0,0256	0,0093
<b>Ponto 10</b>	0,0242	0,0092

\* Valores de referência de concentração máxima permitida contidos na resolução N° 357 de 17 de março de 2005 Publicada no DOU n° 053, de 18 de março de 2005, páginas 58 – 63. ND= Não Detectado. Os Pontos de coleta estão demonstrados na Figura 3.

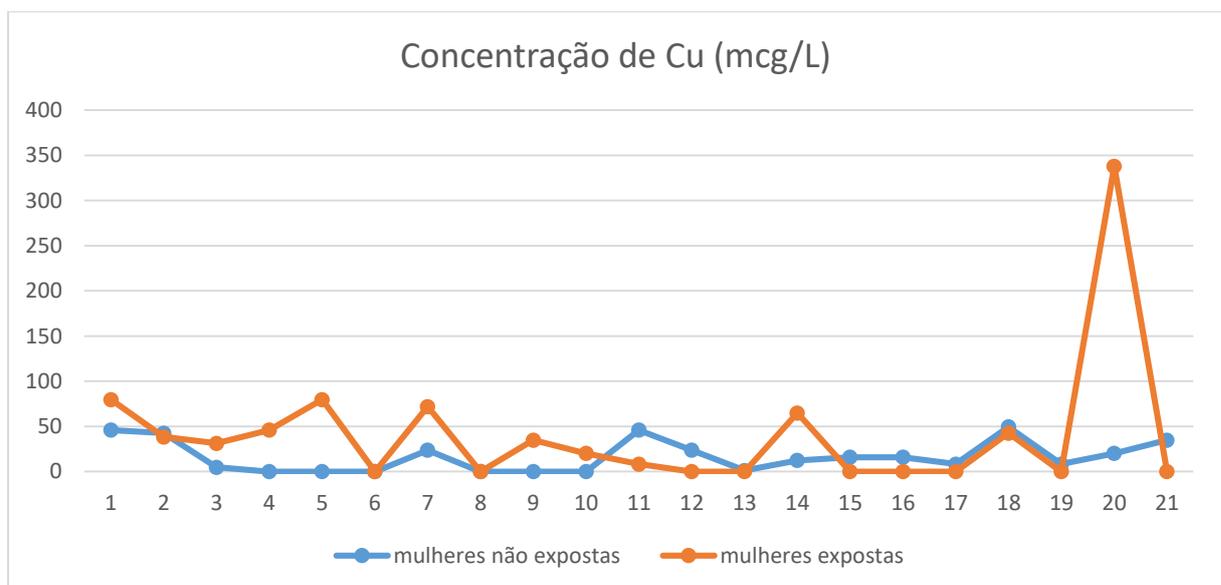
Os dados indicam que a contaminação por consumo da água do rio que banha a comunidade é comum a todos os moradores que dependem do rio para seu suprimento, uma vez que em todos os pontos de coleta apresentou resultados acima do permitido. Como predominantemente a população não utiliza água tratada, todos os moradores que habitam a pelo menos 10 anos (tempo suficiente para contaminação crônica por metal pesado) na região se tornam interessantes para o estudo, pois como se trata de uma intoxicação crônica, o tempo de exposição é um fator importante, por isso o estudo foi feito com esse critério. Esses resultados sozinhos não conseguem expressar o grau de contaminação dos moradores, pois não se sabe o tempo que essas concentrações estão acima do limite permitido, o que se torna fundamental analisar outros fatores, como os das análises bioquímicas, e sugerir evidências com afirmações de outros resultados.

## 5.2 RESULTADO DA ANÁLISE DO METAL COBRE NA URINA

A urina é um dos materiais biológicos em que o cobre não é comum de ser achado em níveis superiores a 60 microgramas, devido não fazer parte da fisiologia renal, o cobre só pode ser encontrado na urina acima desse valor devido alguma contaminação por este metal ou anormalidades, diferente então do sódio, potássio e entre outros metais (eletrólitos). Os grupos de comparação se dividiram em controle (não expostos) e experimentais (expostos), sendo uma relação quantitativa aproximada entre os grupos, pois nem todos aceitaram coletar urina, os resultados estão descritos em gráficos que expressam cada um dos pacientes analisados.

### 5.2.1 RESULTADO DO GRUPO FEMININO

**Gráfico 1:** mostrando os resultados da concentração de cobre na urina em mulheres expostas e não expostas.



Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de tolerância até 60 mcg/L).

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,156956

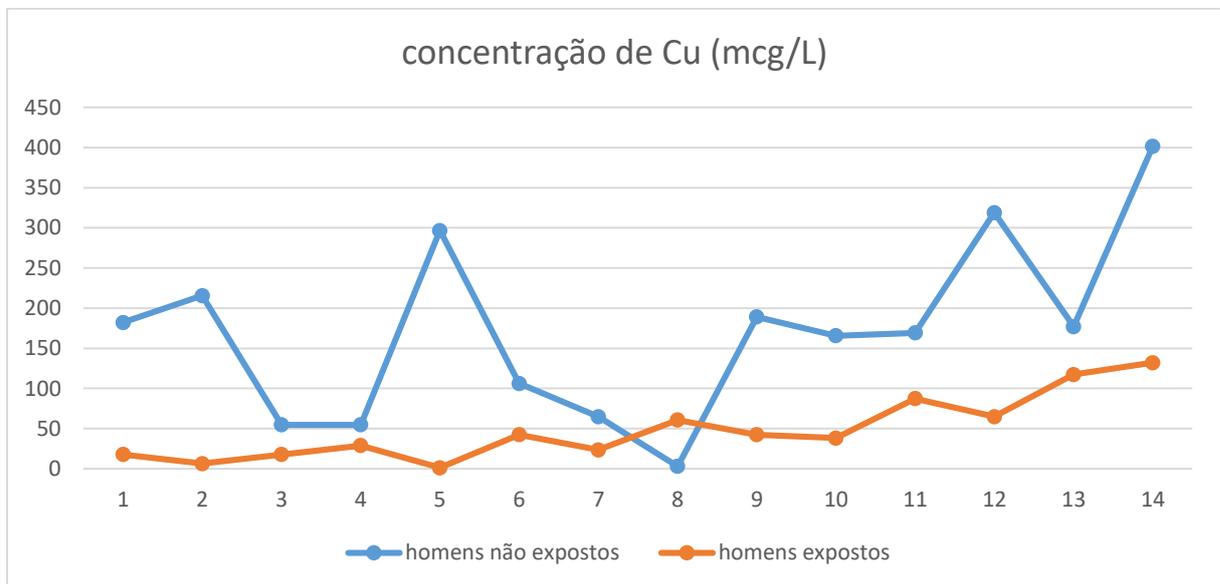
Método: Anova, uma via, com  $p > 0,05$ .

A quantidade de mulheres em cada grupo é apenas vinte e uma devido algumas não ofertarem o material biológico para análise (urina), porém existindo significância estatística. O grupo exposto tiveram resultados acima do normal, enquanto o controle nenhum, o fato de entre as mulheres expostas existirem algumas com resultados dentro do limite, sugere que entre elas

existem fatores que fazem com a exposição ao cobre não seja a mesma, como por exemplo o consumo de água mineral, (o bairro não possui saneamento básico) mas não só esse, outros fatores como teor de outros eletrólitos da alimentação podem impedir a absorção de cobre, e estão nas possibilidades de interferentes no teor de cobre na urina, assim como doenças que acumulam cobre no organismo.

### 5.2.2 RESULTADO DO GRUPO MASCULINO

**Gráfico 2:** mostrando resultados da concentração de cobre na urina em homens expostos e não expostos.



Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de tolerância até 60 mcg/L).

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,000687

Método: Anova, uma via, com  $p < 0,05$  (significância estatística).

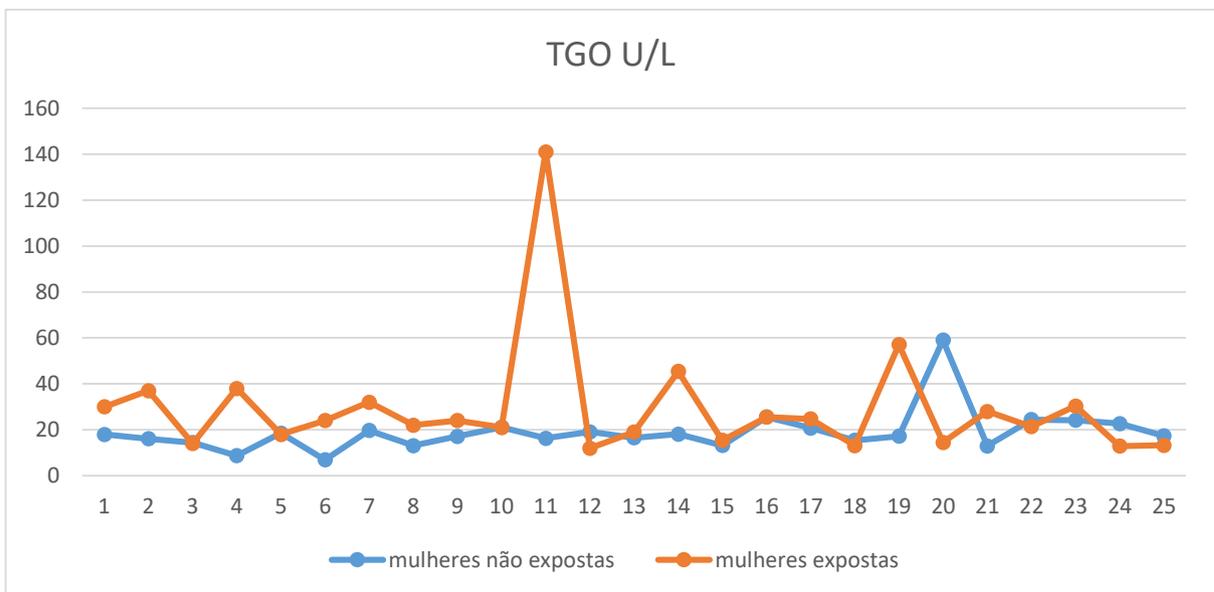
Diferente do resultado das mulheres, o grupo dos homens apresentou resultados bem diversificados, em que o grupo exposto apresentou menos alterações que o grupo não exposto, e houve significância estatística com o  $p < 0,005$ , para comparação entre os grupos, isso faz com que reflita-se a possibilidade de interferência de outros fatores na concentração excessiva de cobre na urina como bebidas alcoólicas, e outros fatores que não sejam a contaminação crônica por ingestão de água, de qualquer forma não deixando de relacionar-se com algum tipo de contaminação.

### 5.3 ANÁLISES DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS HEPÁTICOS.

A avaliação bioquímica analisou um possível indicativo de exposição de cobre contaminante (acúmulo no fígado), através da utilização de dosagens das enzimas transamino glutamo pirúvica (TGP), transamino glutamo oxalacética (TGO) gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FAL), e de Bilirrubna total (B.T), Bilirruibina indireta (B.I), e bilirrubina direta (B.D) do soro dos pacientes. Marcadores biológicos ou biomarcadores são uma grande ferramenta indicativa para avaliação potencial de riscos em humanos que estiveram expostos à substâncias químicas contaminantes (incluindo o Cobre). Dentre os exames para a referente investigação destaca-se também o hemograma, com os seus procedimentos para obter aspectos morfológicos, fisiológicos e também qualitativos e quantitativos de eritrócitos, leucócitos e plaquetas (COSTA, 2014). As análises comparativas dos resultados foram feitas com o critério de sexo dos pacientes da pesquisa.

#### 5.3.1 RESULTADOS DO GRUPO FEMININO.

**Gráfico 3:** mostrando resultados do marcador bioquímico TGO entre mulheres expostas e não expostas.

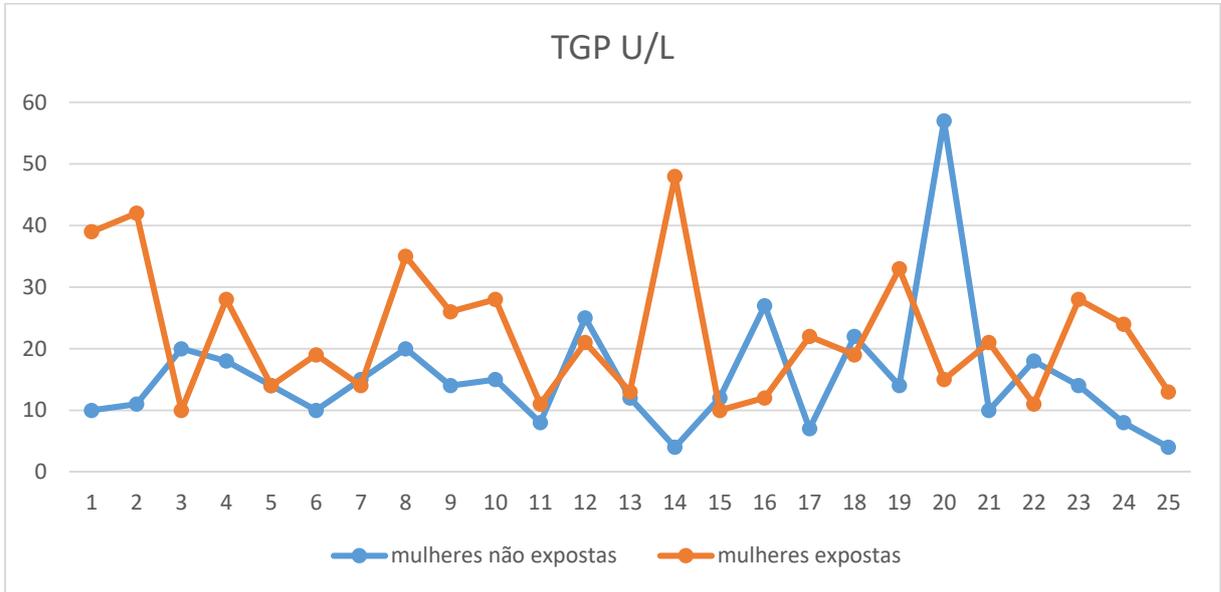


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de tolerância até 42 U/L).

Fonte da variação	valor-P	
Entre grupos	0,066743	

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 4:** mostrando resultados do marcador bioquímico TGP entre mulheres expostas e não expostas.

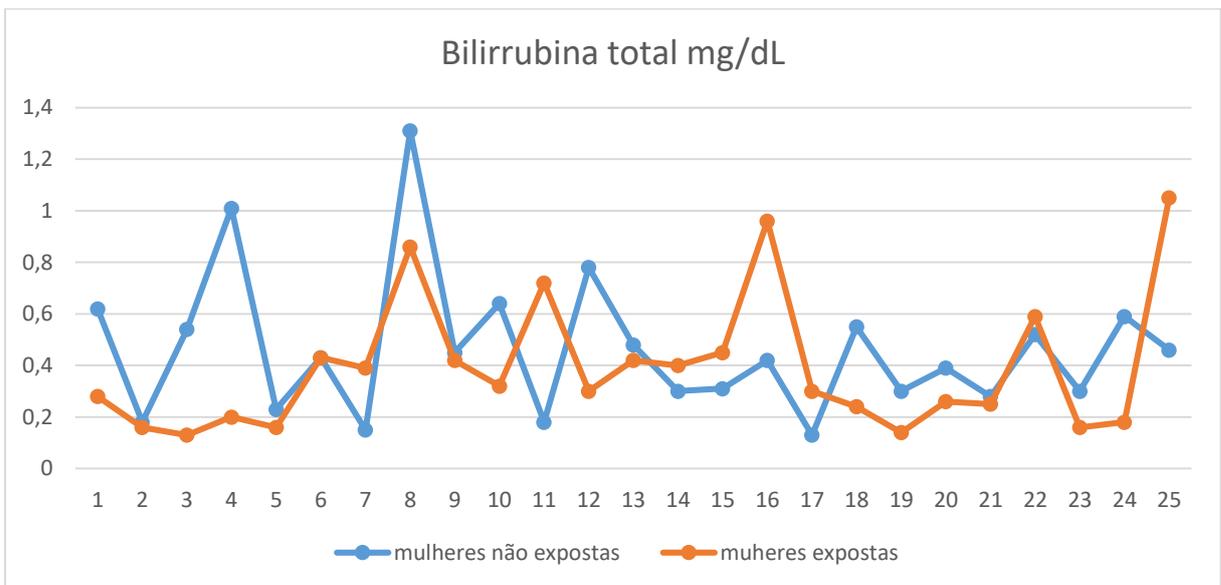


Fonte: elaborado pelo autor. ( Limite de referência até 42 U/L).

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,030766

Método: Anova, uma via, com  $p < 0,05$ .(significância estatística)

**Gráfico 5:** mostrando resultados do marcador bioquímico bilirrubina direta entre mulheres expostas e não expostas.

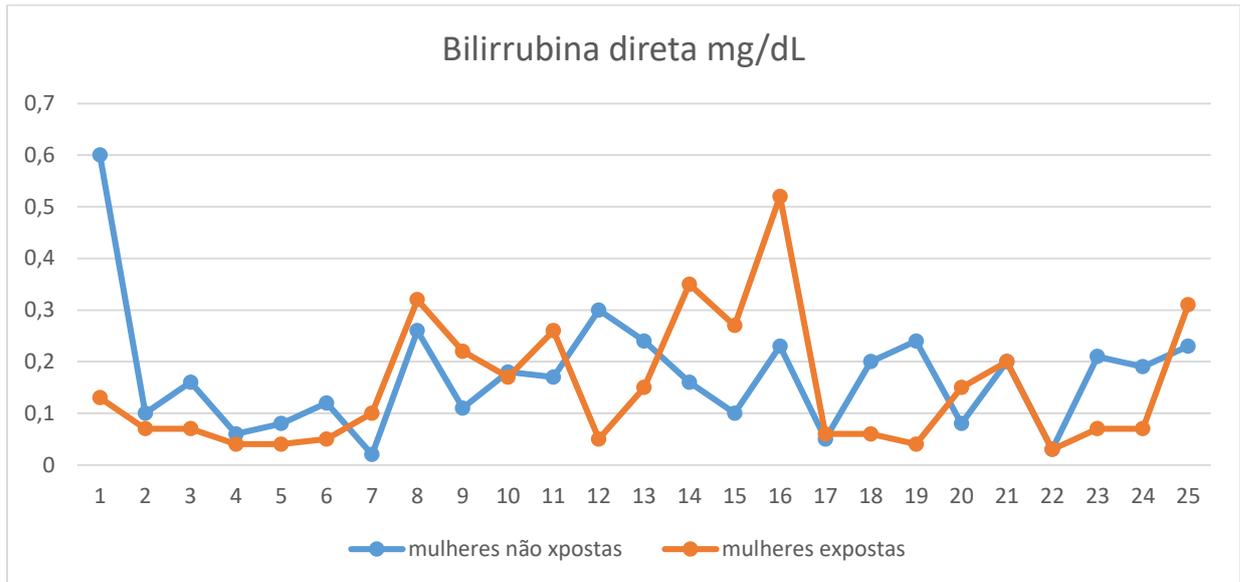


Fonte: elaborada pelo autor. (Limite de referência até 1,2 mg/dL).

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,347078

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 6:** mostrando resultados do marcador bioquímico bilirrubina direta entre mulheres expostas e não expostas.

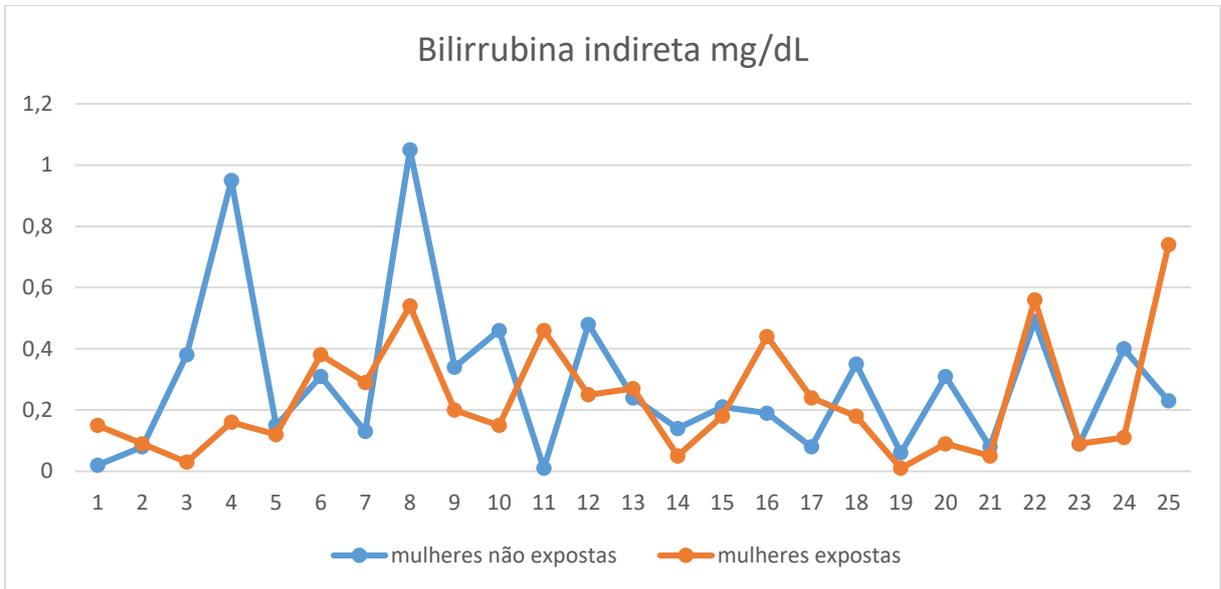


Fonte: elaborada pelo autor. ( Limite de referência até 0,4 mg/dL)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,548955

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 7:** mostrando resultados do marcador bioquímico bilirrubina indireta entre mulheres expostas e não expostas.

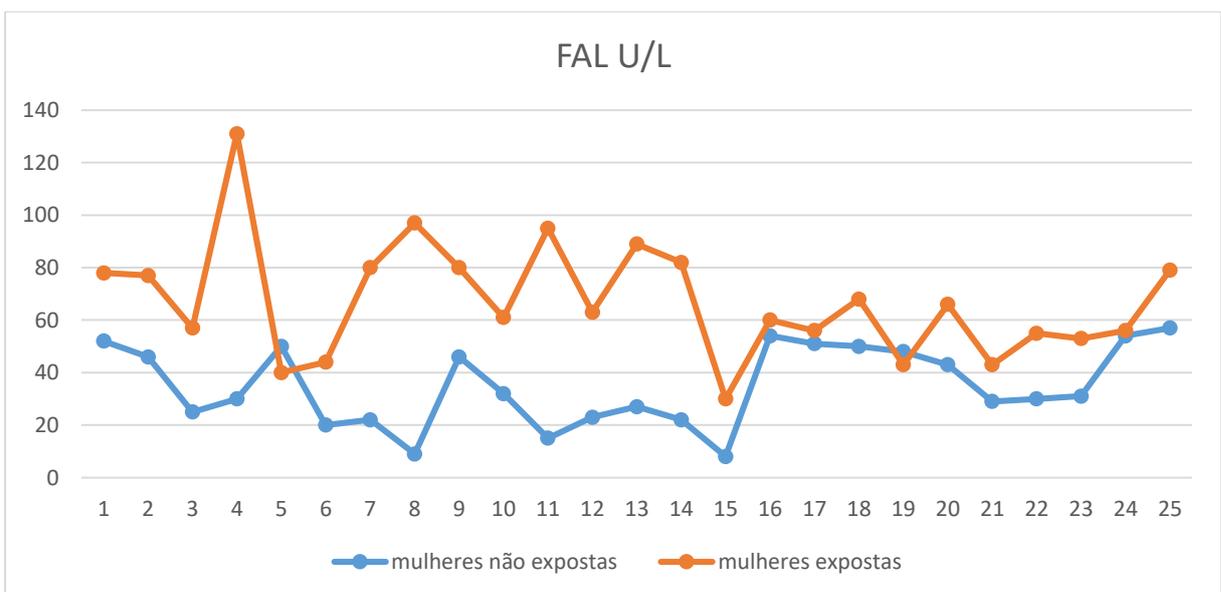


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência até 0,8 mg/dL)

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,386556

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 8:** mostrando resultados do marcador bioquímico fosfatase alcalina entre mulheres expostas e não expostas.

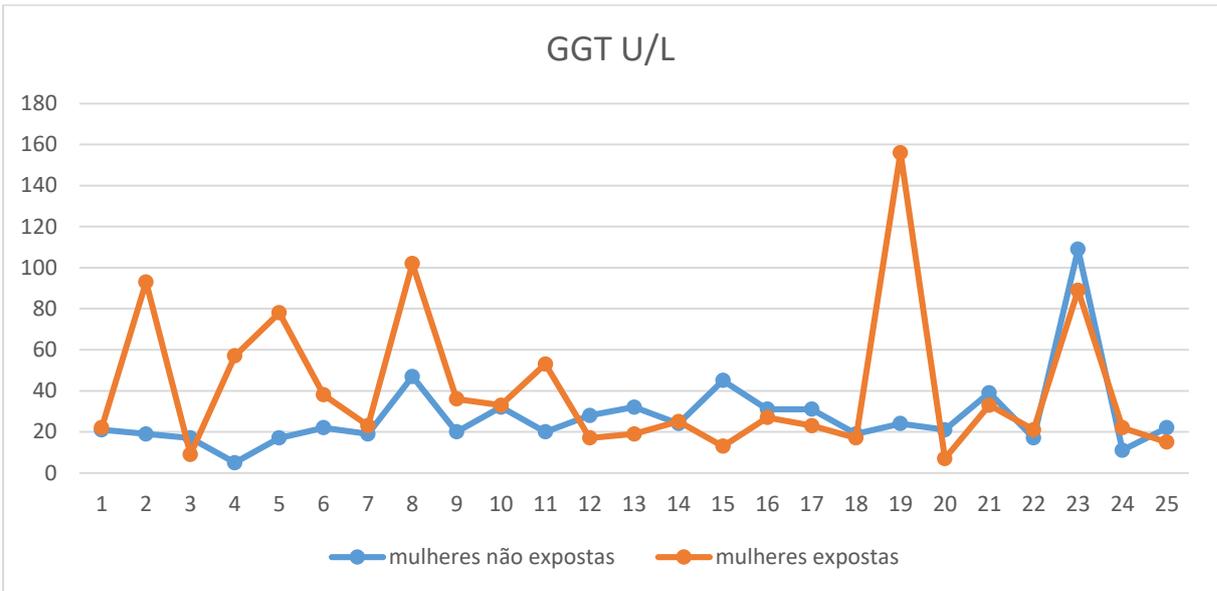


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 27 até 100 U/L).

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	2,17E-07

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 9:** mostrando resultados do marcador bioquímico gama glutamil transferase entre mulheres expostas e não expostas.



Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 5 até 58 U/L)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,108478

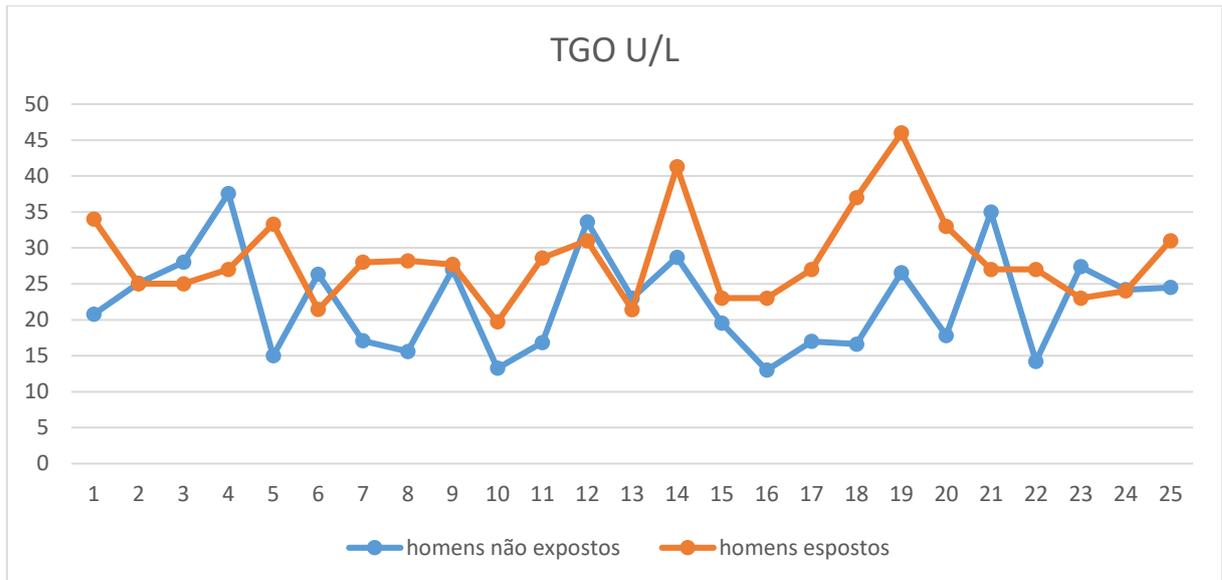
Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

O grupo feminino não exposto apresentou resultados não indicadores de danos hepáticos entre as mulheres participantes, pelo menos foi o que indicou a prevalência de alterações nesse grupo. Sendo que quase todos os marcadores hepáticos tiveram resultados sem significância estatística (com  $p > 0,005$ ), com exceção do marcador TGP. Considerando também entre os resultados alterados (acima do limite de tolerância), existem aqueles pacientes em que alterações só foram vistas em apenas um marcador hepático, ou seja, isso faz com que independentemente da quantidade de alterações em um marcador se não existir alteração em pelo menos algum outro marcador, isso se torna pouco contribuinte para analisar uma possível intoxicação por cobre ou outros metais pesados. O GGT foi o marcador com significativas alterações (20% das mulheres no grupo exposto), todas acima (existem limites inferiores) dos valores de referência, dessas cinco alterações de pacientes no marcador GGT do grupo exposto, todas tiveram alterações em parâmetros de bilirrubina, sendo somente uma acima dos valores

de referência para bilirrubina, portanto não possuindo ligação com icterícia, sendo não interessante para o estudo, uma vez que um dos efeitos de contaminação por cobre (Cu) é a hemólise (causadora da icterícia).

### 5.3.2 RESULTADOS DO GRUPO MASCULINO.

**Gráfico 10:** mostrando resultados do marcador bioquímico TGO entre homens expostos e não expostos.

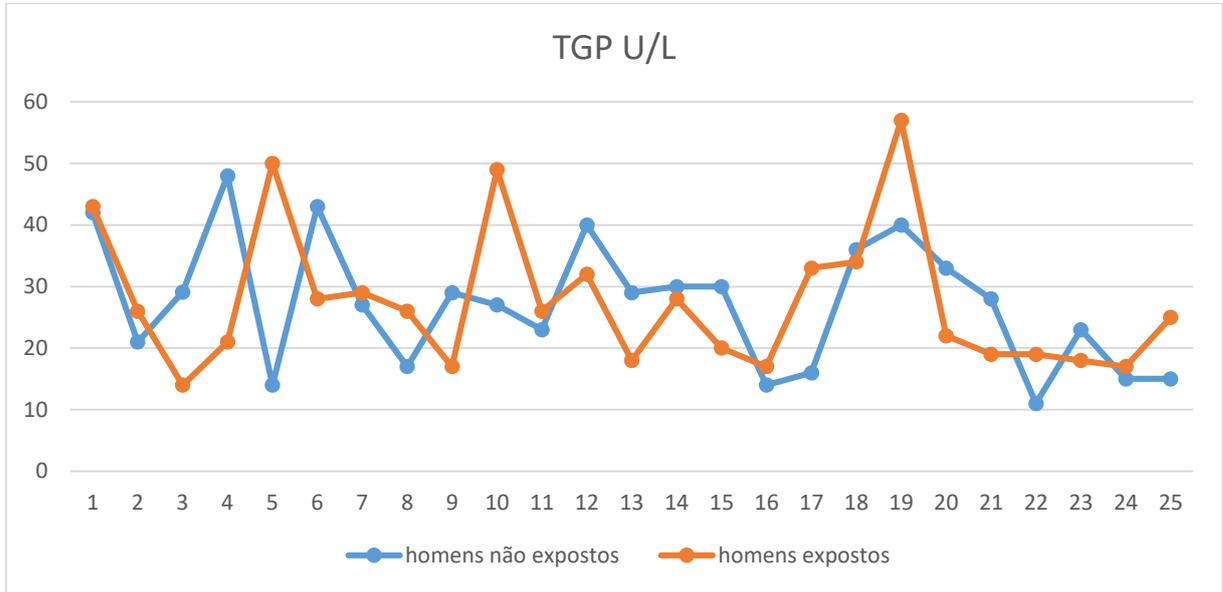


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência até 42 U/L)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,00267

Método: Anova, uma via, com  $p < 0,05$ .

**Gráfico 11:** mostrando resultados do marcador bioquímico TGP entre homens expostos e não expostos.

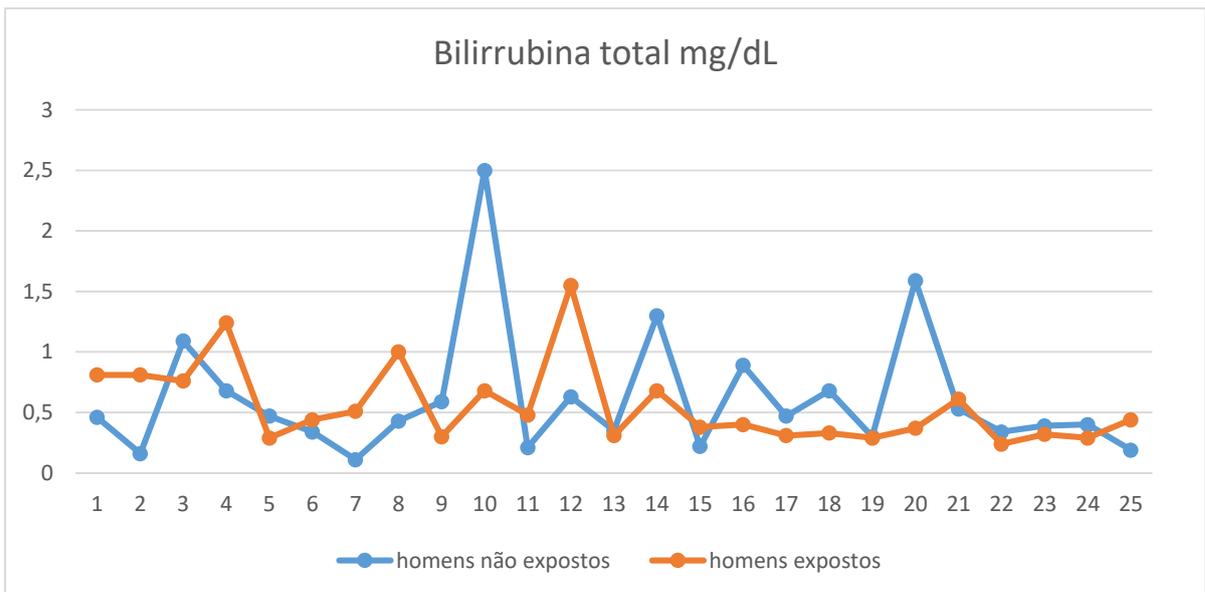


Fonte: elaborado pelo autor. ( Limite de referência até 42 U/L)

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,919101

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 12:** mostrando resultados do marcador bioquímico bilirrubina total entre homens expostos e não expostos.

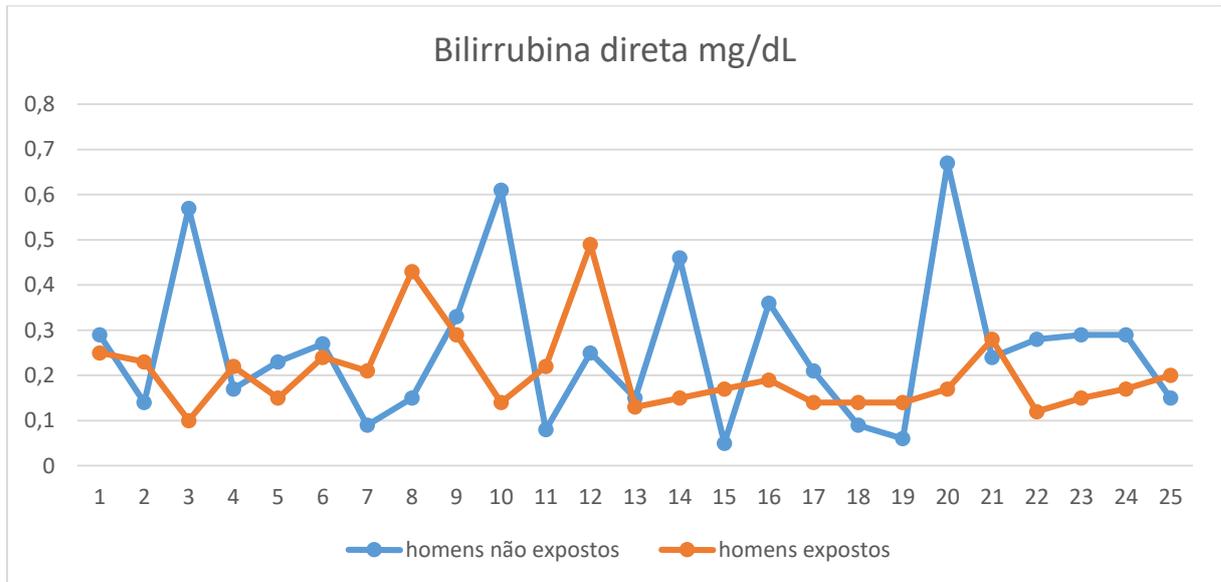


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência até 1,2 mg/dL)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,63764

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05

**Gráfico 13:** mostrando resultados do marcador bioquímico bilirrubina direta entre homens expostos e não expostos.

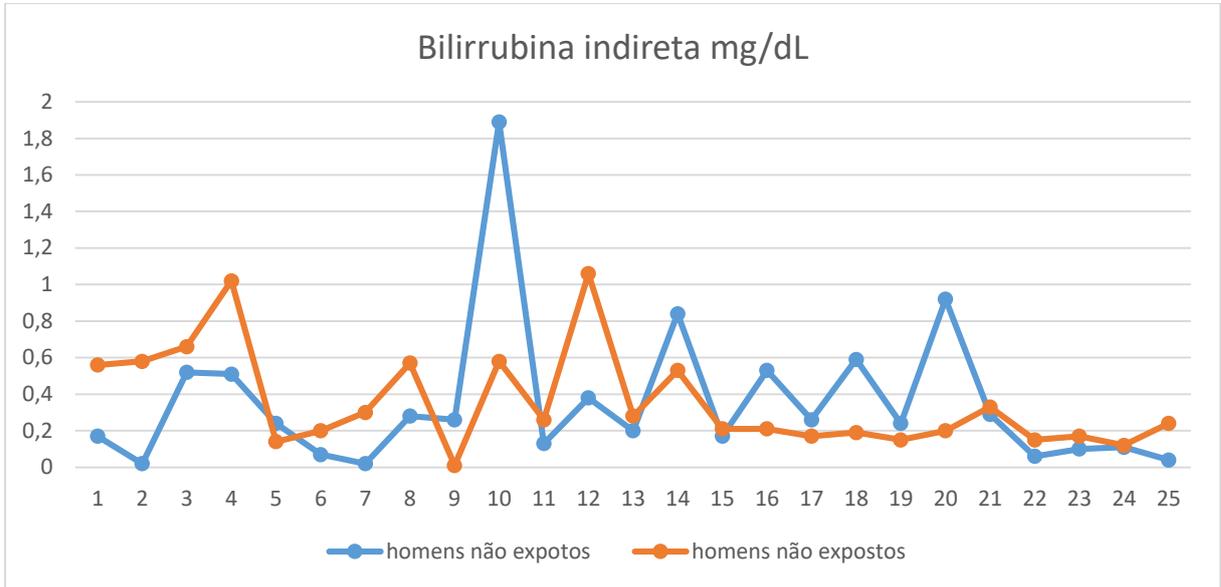


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência até 0,4 mg/dL)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,163008

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 14:** mostrando resultados do marcador bioquímico bilirrubina indireta entre homens expostos e não expostos.

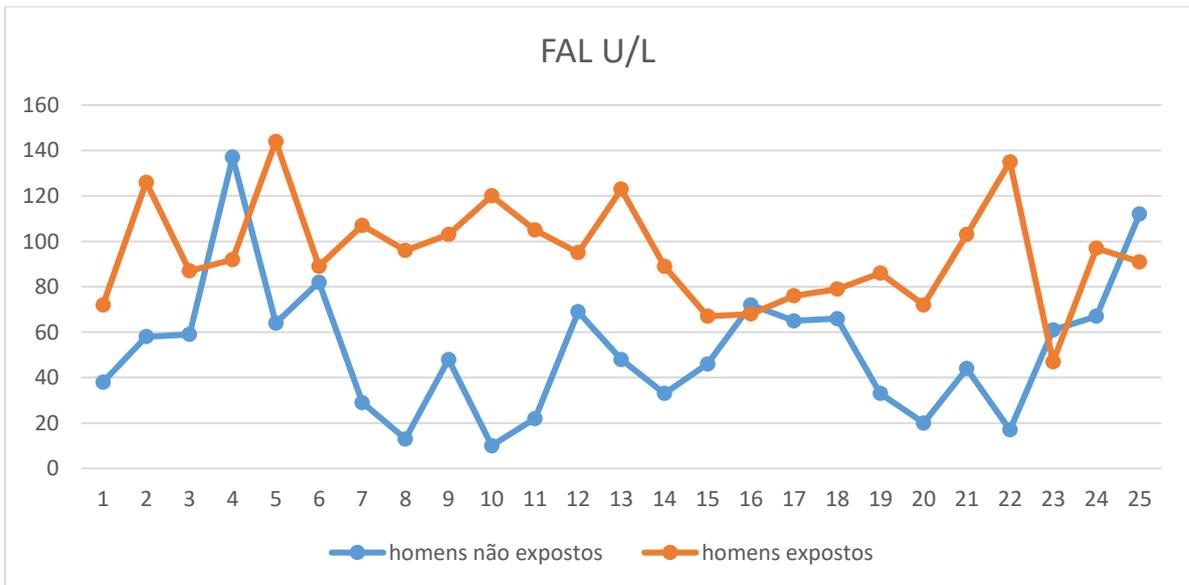


Fonte: elaborado pelo autor (valor de referência até 0,8 mg/dL)

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,983623

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 15:** mostrando resultados do marcador bioquímico fosfatase alcalina entre homens expostos e não expostos.

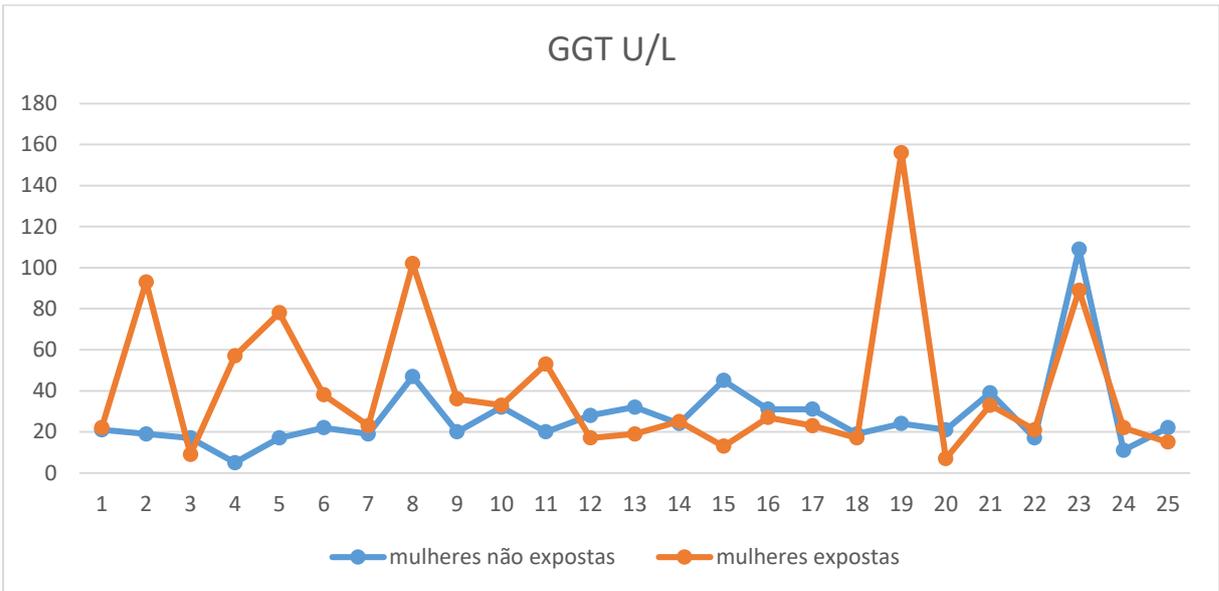


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 27 até 100 U/L)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	9,24E-07

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 16:** mostrando resultados do marcador bioquímico gama glutamil transferase entre homens expostos e não expostos.



Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 5 até 58 U/L)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,108478

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

O grupo masculino apresentou resultados sem alterações significativas ( $p > 0,005$ ) em seis dos sete parâmetros analisados. Três pacientes do grupo controle tiveram seus resultados alterados em três marcadores hepáticos, o que indica um forte indício de dano hepático nesses pacientes, esse grupo conta ainda com mais da metade dos pacientes com resultados alterados, deixando que esses parâmetros ganhem mais importância de comparação quanto a análise da interferência de contaminação com o grupo exposto, isso pode estar atribuído à fatores como, hábitos de vida quanto à alimentação, e alcoolismo dos homens não expostos. No grupo de homens expostos alguns dos pacientes não tiveram mais do que um marcador bioquímico com resultados fora do limite de tolerância, esses casos não são indicativos de uma possível contaminação por cobre, porém houve uma análise de resultados iguais entre os dois grupos, que foi a quantidade de pacientes que tiveram alterações em mais de um marcador bioquímico, ambos grupos foram sete homens (43,7%) no total de dezesseis pacientes com alterações no

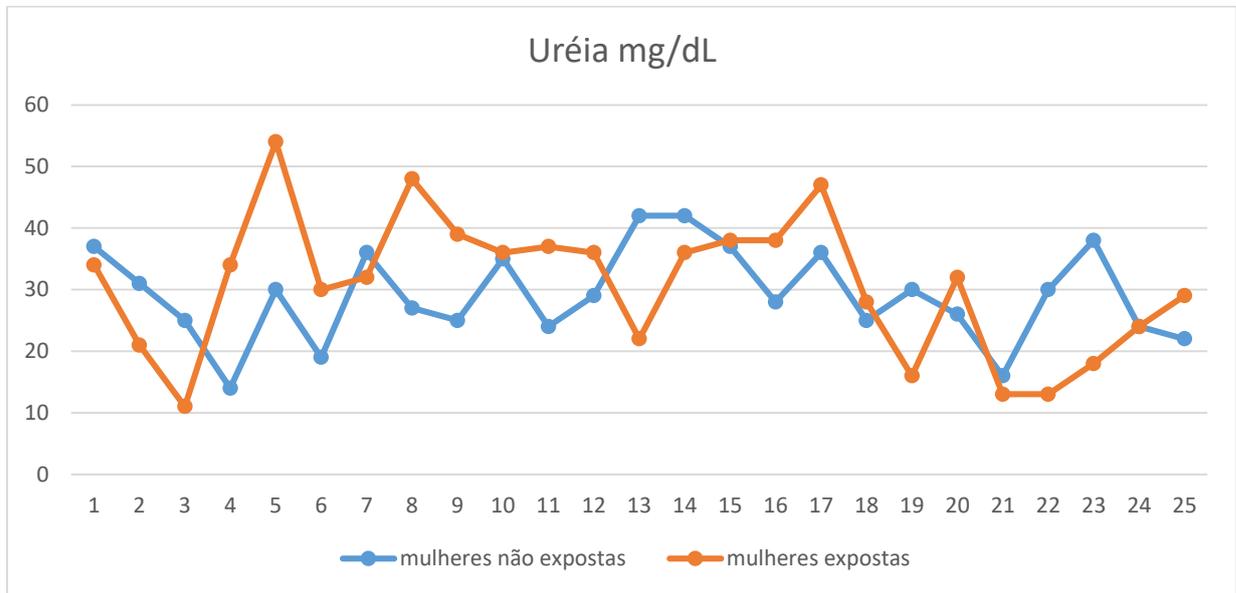
grupo exposto. O grupo controle masculino se apresentou de forma não clássica para um grupo controle, devido a sua proximidade com os resultados do grupo exposto (masculino), porém as separações por sexo foram feitas sabendo as diferenças entre os costumes e hábitos de vida entre homens e mulheres, tendo isso em mente e levando em consideração que esses fatores poderiam interferir nos resultados, o grupo controle pode ser considerado como referência comparativa, mesmo existindo proximidade com o grupo exposto.

#### 5.4 ANÁLISE DOS MARCADORES BIOQUÍMICOS RENAIIS

Os parâmetros renais (creatinina e uréia) são fundamentais nas análises de contaminação por cobre, uma vez que são possíveis indicadores de lesões renais, mais especificamente dos túbulos renais no caso de intoxicação por cobre, essas lesões são causadas por hemoglobinúria provocada pela hemólise característica da contaminação por este metal, em estudos de animais observou-se resultar em insuficiência renal marcante, (MACHADO 1998 e SOARES 2004). O material analisado para isso foi o soro, sendo o mesmo soro das análises bioquímicas já vistas, e também os mesmos pacientes com suas respectivas identificações numéricas, também para fins comparativos, uma vez que podem ter relação e reforçar alguma ideia já existente sobre algum indício clínico de contaminação por cobre. Portanto, sendo pacientes que apresentam todos os requisitos fundamentais para uma análise lógica de estudo, excluindo fatores que possivelmente poderiam facilitar uma sujeição errônea dos resultados obtidos, isso tudo tanto no grupo controle como no grupo exposto, fatores como idade, tempo de moradia no local de exposição (grupo exposto) doenças, tomada de medicamentos foram levados como critério de exclusão, por isso também as amostras foram feitas em triplicata para redução de erros analíticos do soro desses pacientes, para assim termos resultados que mais se aproximem da realidade.

5.4.1 RESULTADOS DO GRUPO FEMININO

**Gráfico 17:** mostrando os resultados do marcador bioquímico uréia entre mulheres expostas e não expostas.

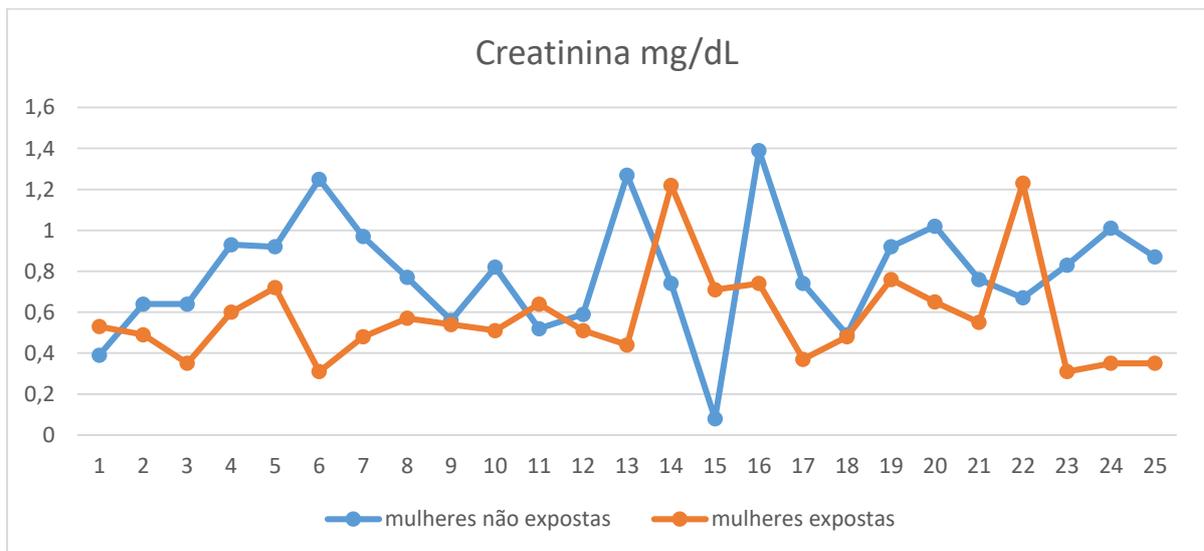


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 10 até 45 mg/dL)

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,576878

Método: Anova, uma via, com  $p >$  que 0,05.

**Gráfico 18:** mostrando resultados do marcador bioquímico creatinina entre mulheres expostas e não expostas.



Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 0,4 até 1,3 mg/dL)

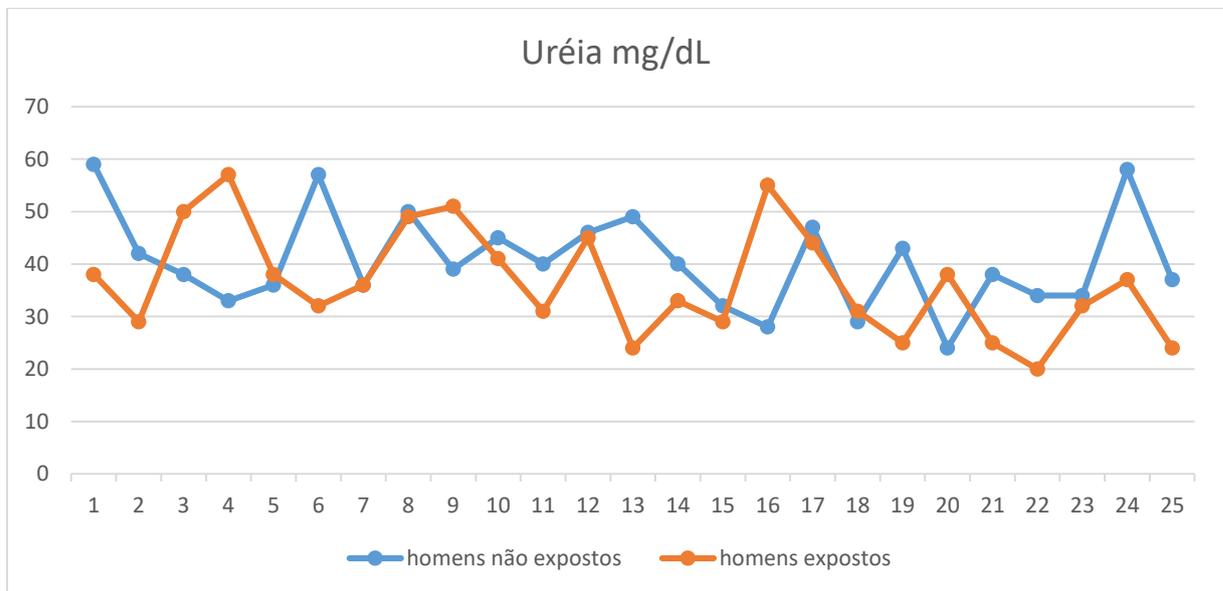
<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,005788

Método: Anova, uma via, com  $p < 0,05$  (significância estatística).

Os resultados mostram alterações maiores no grupo das mulheres não expostas, a grande maioria em um parâmetro com significância, assim como nas expostas, com  $p < 0,05$  a creatinina foi a que apresentou resultados mais relevantes para o estudo, resultando em um grupo exposto e não exposto com alterações consideráveis para estatística, se tratando de análise baseada em função renal deficiente provocado por possível contaminação cúprica, e sabendo que o material utilizado foi o soro sanguíneo dos pacientes, tem-se em mente que os marcadores creatinina e ureia tendem a apresentar aumentos séricos nesses casos, considerando isso, não houve sequer alterações abaixo do limite inferior, os valores portanto não indicam relação do grupo feminino com indícios de lesões renais (insuficiência renal), e conseqüentemente com possível indício de contaminação por cobre.

#### 5.4.2 RESULTADOS DO GRUPO MASCULINO

**Gráfico 19:** mostrando os resultados do marcador bioquímico uréia entre homens expostos e não expostos.

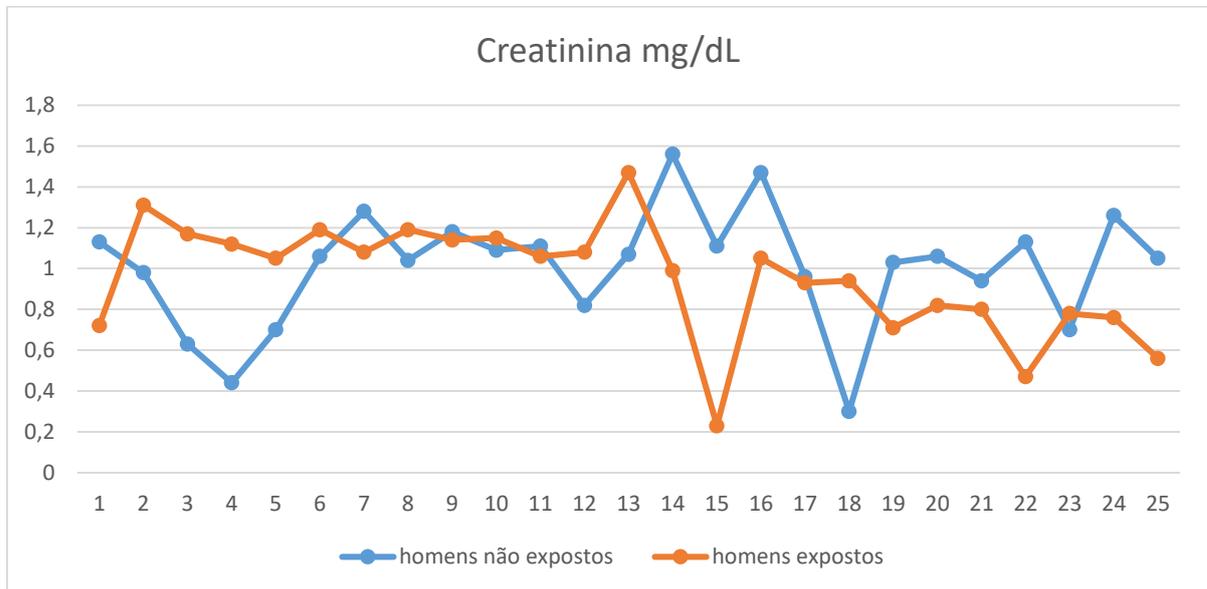


Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 10 até 45 mg/dL)

<i>Fonte da variação</i>	<i>valor-P</i>
Entre grupos	0,153664

Método: Anova, uma via, com  $p > 0,05$ .

**Gráfico 20:** mostrando resultados do marcador bioquímico creatinina entre homens expostos e não expostos.



Fonte: elaborado pelo autor. (Limite de referência de 0,4 até 1,3 mg/dL)

Fonte da variação	valor-P
Entre grupos	0,507388

Método: Anova, uma via, com  $p > 0,05$ .

Os resultados mostram mesmas quantidades de alterações no grupo controle em relação ao grupo exposto masculino, não havendo significância estatística nos dois parâmetros analisados (uréia e creatinina), não houve alterações em uréia, resultando em uma similaridade entre os grupos, mas mesmo acontecendo isso, os eles não perdem a importância comparativa somente por este fator, mas podendo indicar já uma não relevância quanto a esses resultados para o que interessa o estudo. As alterações relatadas nesse grupo de homens foram em creatinina, e nesse marcador os resultados apresentaram as mesmas quantidades de alterações. Portanto esses resultados não dão indícios de existirem alguma relação com lesão renal decorrente de contaminação por cobre, e ainda sugerem que não existe uma relevância de que a contaminação por cobre e/ou outros metais já tem prejudicado a função renal de moradores da área contaminada.

## 6 CONCLUSÃO

Observou-se com todas as análises feitas, incluindo as não específicas, que o grupo feminino expressou uma diferença maior e típica de uma relação caso-controle, diferente de alguns parâmetros de comparação dos grupos masculinos, porém os indícios de contaminação da população exposta é nítido com o resultado da análise de água, pois é bem mais sugestivo que outros parâmetros com resultados divergentes analisados, indiciando que a população exposta possui contaminação crônica pelo metal cobre e a não exposta possui fatores interferentes que fazem com que em algumas análises tenham uma semelhança em certos parâmetros com a população exposta.

## 7 REFERÊNCIAS

ANDERSON, J. J. B. Minerais. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10. ed. São Paulo: Roca. p. 107-145, 2002

APHA. **American Public Health Association**. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. AWWA, Washington, p.1496, 2012.

ARAI, K., IIZUKA, S., TADA, Y., OIKAWA, K., TANIGUCHI, N. **Increase in the glucosylated form of erythrocyte Cu-Zn superoxide dismutase in diabetes in close association of the non enzymatic glucosylation with the enzyme activity**. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.924, n.2, p.292-296, 1987.

BALEVSKA, P.S., RUSSANOV, E.M., KASSABOVA, T.A. **Studies on lipid peroxidation in rat by copper deficiency**. *International Journal of Biochemistry*, Oxford, v.13, n.4, p.489-493, 1981.

BATTISTA, O. A.; **chemistry**, n.42, p.6, 1969.

BELLOTTO, V.R., MIEKELEY, N. **Trace metals in mussel shells and corresponding soft tissue samples: a validation experiment for the use of Perna perna shells in pollution monitoring**. *Anal. Bioanal. Chem.* v. 389, p. 769–776, 2007.

BRASIL. MS. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Coleta de Sangue. Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais. Brasília, 2010.

CARVILLE, D.G.M., STRAIN, J.J. **The effect of copper deficiency on blood antioxidant enzymes in rats fed sucrose or sucrose and lactose diets**. *Nutrition Report International*, Los Altos, v.39, n.1, p.25-33, 1989.

COSTA, T. P. C. **Biomonitoramento citogenético e laboratorial em agentes de endemia expostos a pesticidas organofosforados no município de Valença –PI**. 2014. 126f. Dissertação (Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica) - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2014.

Disponível em: [http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/13789/1/2014\\_dis\\_tpccosta.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/13789/1/2014_dis_tpccosta.pdf).

Acesso em: 10 jul. 2019.

CARLTON, W.W., KELLY, W. A neural lesions in the offspring of female rates fed a copper deficient diet. **Journal of Nutrition, Bethesda.** v.97, n.1, p. 42-51, 1969.

COMAR. C. L; BRONNER. F; **mineral metabolism.** An advanced treatise. Academic press. V. II, new York, 1968.

DANKS, D. M. WYNGAARDEN, D. S. FREDRICSON, I. L. GOLDSTEIN, M. S. **Brown Hereditary disorders of copper metabolism in Wilson's disease and Menkes' disease.** In The Metabolic Basis of Inherited Disease, ed. I. B. Stanbury, J. B., p. 125 1-68.5th ed. New York: McGraw-Hill. p.2032., 1983.

DANKS DM. **Copper deficiency in humans.** Annu Rev Nutr;n.8 p.235–57, 1988.

DAUNCEY MJ, SHAW JLC, URMAN J. **The absorption and retention of. magnesium, zinc and copper by low birth weight infants fed pasteurized human breast milk.** Pediatr Res;n.11 p.991–7, 1977.

DIPAULO, D.V., KANFER, J.N. **Copper deficiency and the central nervous system.** Myelination in the rat: morphological and biochemical studies. Journal of Neuropathology Experimental Neurological, Baltimore, v.33, n.2, p.226-236, 1974.

DAMERON, C.T., HARRIS, E.D. **Regulation of aortic Cu, Zn-superoxide dismutase with copper.** Effects in vivo. Biochemistry Journal, London, v.248, n.3, p.663-688, 1987.

DICHI, J. B.; BURINI, R. C. Metabolismo do cobre e anemia. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica,** Porto Alegre, v. 6, n. 1, p. 13-21, jan./abr. 1991. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nex tAction=lnk&exprSearch=102805&indexSearch=ID>. Acesso em: 10 jul. 2019.

ERICKSON, R.J., BENOIT, D.A., MATTSON, V.R., NELSON Jr, H.P., LEONARD, E.N.,  
**The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows.**

Environmental Toxicology and Chemistry, v. 15, p. 181-193, 1996.

FARRINGTON, J.W., GOLDBERG, E.D., RISEBROUGH, R.W., MARTIN, J.H., BOWEN,  
V.TUS “**Mussel Watch**” 1976–1978: an overview of the trace-metal, DDT, PCB,  
hydrocarbon and artificial radionuclide data. Environ. Sci. Technol. n.17, p.490–496, 1983.

FERREIRA, M. B; ANTONELLI, A. C.; ORTOLANI, E. L. Intoxicação por cobre, selênio,  
zinco e cloreto de sódio. In: SPINOSA, H. S; GÓRNIK, S. L.; NET, J. P. **Toxicologia  
aplicada à medicina veterinária.** 1.ed. Barueri: Editora Manole. p.547-558, 2008.

FITZGERALD, D. J. Safety guidelines for copper in water. **American Journal of Clinical  
Nutrition**, Adelaide, Austrália, v. 67, n.5, p.1098-1102, maio 1993. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1093/ajcn/67.5.1098S>. Acesso em: 10 jul, 2019.

Food and Drug Administration. Rules and regulations. **Nutrient requirements for infant  
formulas.** Fed Regist 50. n.45 p.106–8,1985.

FITZGERALD, D. J. Safety guidelines for copper in water. **American Journal of Clinical  
Nutrition.** v. 67, p.1098-1102, 1998.

GALEANO, E. **As veis abertas da América Latina.** Ed: paz e terra. Rio de Janeiro, 1992.

GROCKE, D.R., GILLIKIN, D.P.. **Advances in mollusc sclerochronology and  
sclerochemistry: tools for understanding climate and environment.** Geo. Mar. Lett. v.28,  
p.265–268, 2008.

GOLDBERG, E.D. **The mussel watch – a first step in global marine monitoring.** Mar.  
Pollut. Bull. n.6, p.111, 1975.

GOLDBERG, E.D., BOWEN, V.T., FARRINGTON, J.W., HARVEY, G., MARTIN, J.H., PARKER, P.L., RISEBROUGH, R.W., ROBERTSON, W., SCHNEIDER, W.GAMBLE, E., **The mussel watch.** Environ. Conserv. n.5, p.101–125, 1978.

HARRIS, E. D. Copper as a cofactor and regulator of copper, zinc superoxide dismutase. **The Journal of Nutrition**, Atlanta, Georgia, v.122, n.3, p.636-640, mar. 1992. Disponível em: [https://academic.oup.com/jn/articleabstract/122/suppl\\_3/636/4755258?redirectedFrom=fulltext](https://academic.oup.com/jn/articleabstract/122/suppl_3/636/4755258?redirectedFrom=fulltext). Acesso em: 10 jul. 2019.

HARRIS, Edward D.. Cellular copper transport and metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v.20, p.291–310, 2000.

HUANXI, W., LEJUN, Z., PRESLEY, B.J. **Bioaccumulation of heavy metals in oyster (*Crassostrea virginica*) tissue and shell.** Environ. Geol. v.39, p.1216–1226, 2000.

HAWKES, G.P., DAY, R.W., WALLACE, M.W., NUGENT, K.W., BETTIOL, A.A., JAMIESON, D.N., WILLIAMS, M.C. **Analysis the growth and form of mollusk shell layers, in situ, by cathodoluminescence microscopy and raman spectroscopy.** J. Shellfish Res. v. 15, p. 659–666, 1996.

HAMILTON, E.I., CLIFTON, R.J. **Concentration and distribution of the transuranium radionuclides  $^{239+240}\text{Pu}$ ,  $^{238}\text{Pu}$  and  $^{241}\text{Am}$  in *Mytilus edulis*, *Fucus vesiculosus* and surface sediment of Esk Estuary.** Mar. Ecol.-Progr. Ser. n.3, p.267– 277, 1980.

HAGGLOF, B., HALLMANS, G., HOLMGREN, G., LUDVIGSSON, J., FALKMER, S. **Prospective and retrospective studies of zinc concentrations in serum, blood clots, hair and urine in young patients with insulin-dependent diabetes mellitus.** Acta Endocrinology, Copenhagen, v.102, n.1, p.88-95, 1983.

HELLER RM, KIRCHNER SG, O'NEILL JA Jr, et al. **Skeletal changes of copper deficiency in infants receiving prolonged total parenteral nutrition.** J Pediatr. n.92 p.947–948, 1978.

JANES, N., PLAYLE, R.C. **Modeling silver binding to gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.14 (11), p.1847-1858, 1995.

KNUTTON, S; **Education in chem.** n.48, p.135, 1986.

LANGSTON, W.J., SPENCE, S.K. Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. In: **METAL SPECIATION AND BIOAVAILABILITY IN AQUATIC SYSTEMS** TESSIER, Wiley, Chichester, A., Turner, D.R. (Eds.) p. 407–478, 1995.

LIMA, M.O et. al. **Avaliação de arsênio total, de elementos traços e bacteriológica em águas de consumo na comunidade do Elesbão, município de Santana, estado do Amapá, Brasil.** *Cad. saúde colet.*, Rio de Janeiro v.15, n.4, p.467- 482. 2007. Disponível em: [http://www.cadernos.iesc.ufrj.br/cadernos/images/csc/2007\\_4/artigos/CSC\\_IESC\\_2007\\_4\\_3.pdf](http://www.cadernos.iesc.ufrj.br/cadernos/images/csc/2007_4/artigos/CSC_IESC_2007_4_3.pdf). Acesso em: 10 jul. 2019.

LINDER MC. Copper. In: ZIEGLER EE, FILER, Jr. LJ (eds). **Present knowledge in nutrition**. 7. ed. Washington, DC: ILSI Press. p.307-19, 1996.

LINDER, M. C., HAZEGH-AZAM, M. Copper biochemistry and molecular biology, **American Journal of Clinical Nutrition**, Vol. 63, p.797S-811, 1996.

LIMA, D.P. **Avaliação da contaminação por metais pesados na água e nos peixes da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Amazônia.** Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Brasil, 2013.

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* Vol. 45, 2015.

LINDER, M. C. et al. Copper transport. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, p. 965-971, 1998. Suplemento.

MACHADO, C. H. **Uso do tetratiomolibdato no tratamento de intoxicação cúprica experimental em ovinos: avaliações clínica e toxicológica.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. São Paulo, v.47, n.6, p.421-428, 2010.

MEYER, J.S., SANTORE, R.C., BOBITT, J.P., DEBREY, L.D., BOESE, C.J., PAQUIN, P.R., ALLEN, H.E., BERGMAN, H.L., DI TORO, D.M., **Binding of nickel and copper to fish gills predicts toxicity when water hardness varies, but free ion activity does not.** Environmental Science and Technology, v.33, p. 913-916, 1998.

MC DONALD, P., BAXTER, M.S., FOWLER, S.W. **Distribution of radionuclides in mussels, winkles and prawns.** Part 1. Study of organisms under environmental conditions using conventional radio-analytical techniques. J. Environ. Radioact. n.18, p.181–202, 1993.

MILLER, D.S., O'DELL, B.L. Milk and casein-based diets the study of brain catecholamines in copper-deficient rats. **Journal of Nutrition, Bethesda**, v.117, n.11, p.1890-1897, 1987.

MASON KE. **A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man.** J Nutr; n.109 p,1979–2066, 1979.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: Princípios e Interpretações . 5ªed.** Rio de Janeiro, 2009.

OGA, Seize. **Fundamentos de toxicologia.** 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

ÖZÇELİK, D. et al. **Effects of excessive copper intake on hematological and hemorheological parameters.** **Biological Trace Element Research**, Istanbul, v. 89, n.1, p. 35- 42, out. 2002. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1385/BTER:89:1:35>. Acesso em: 10 jul. 2019.

ORTOLANI, E.L.; MACHADO, C.H.; SUCUPIRA, M. C. **Assessment of some clinical and laboratory variables for early diagnosis of cumulative copper poisoning in sheep.** Veterinary and Human Toxicology, Manhattan, p.289-93, 2003.

ORLOVA, M., **Autoradiographic study of  $^{241}\text{Am}$  distribution in the shell of the freshwater zebra mussel *Dreissena polymorpha* exposed under laboratory conditions.** *Microchim. Acta* n.167, p.173–178, 2009.

OLIVARES M, UAUY R. **Copper as an essential element.** *Am J Clin Nutr*; n.63 p.791–6, 1996.

PEDROSO, M. F. ; LIMA, I.V. **Ecotoxicologia do cobre e seus compostos.** Salvador: CRA, 2001.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. **Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos da cidade de Natal/RN.** *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, v.21, n.2, p.154-157, maio/ago. 2001. Disponível em:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612001000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612001000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 10 jul. 2019.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. **Alterações metabólicas e funcionais do cobre em diabetes mellitus.** *Revista de Nutrição*. Campinas, v. 12, n. 3, p. 213-224, 1999.

PAQUIN, P.R.; SANTORE, R.C.; WU, K.B.; KAVVADAS, C.D; DITORO, D.M. **the biotic ligand model: a modelo of the acute toxicity of metals to aquatic life.** *Environ. Sc. Pol.*, v.3, n.1, p.175-182, 2000.

PLAYLE, R.C., DIXON, D.G., BURNISON, K. **Copper and cadmium binding to fish gills: estimates of metal-gill stability constants and modelling of metal accumulation.** *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* V.50, p.2678-2687, 1993.

PHILLIPS, D.J.H., **Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution.** Elsevier Applied Science. London. UK, 1980

PROHASKA, J.R., WELLS, W.W. **Copper deficiency in the developing rat brain: a possible model for Menkes's steely hair disease.** *Journal of Neurochemistry*, Oxford, v.23, n.1, p.91-98, 1974.

PROHASKA, J.R. Biochemical changes in copper deficiency. **Journal of Nutrition Biochemistry.** Stoneham , v.1, n.9, p.452-461, 1990.

PAQUIN, P.R., DI TORO, D.M., SANTORE, R.C., TRIVEDI, D., WU, K.B. **A biotic ligand model of the acute toxicity of metals.** III. Application to *Chironomus* and *Daphnia* exposure to silver. Section 3 in Integrated Approach to Assessing the Bioavailability and Toxicity of Metals in Surface Waters and Sediments, a submission to the EPA Science Advisory Board, Office of Water, Office of Research and Development, Washington, DC, USEPA822-E-99001, p.3-102, 1999.

RAMOS, T. D. **Avaliação da Exposição Ambiental ao Manganês na População Residente no Entorno de um Estaleiro no Município de Angra dos Reis, RJ.** 2013. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Mato Grosso do Sul, 2013. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/24556/1/658.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2019.

RAMOS, T.D. **Avaliação da Exposição Ambiental ao Manganês na População Residente no Entorno de um Estaleiro no Município de Angra dos Reis, RJ.** Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – ENSP. Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. Ministério da Saúde – MS, 2013.

RIASCOS, J., GUZMÁN, N., LAUDIEN, J., HEILMAYER, O., OLIVA, M. **Suitability of three stains to mark shells of *Concholepas concholepas* (Gastropoda) and *Mesodesma donacium* (Bivalvia).** *J. Shellfish Res.* v.26, p.43–49, 2007.

RAINBOW, P.S., LUOMA, S.N. **Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates – modelling zinc in crustaceans.** *Aquat. Toxicol.* n.105, p.455– 465, 2011.

SARGENTELLI, Vagner; MAURO, Antonio Eduardo; MASSABNI, Antonio Carlos.

**Aspectos do metabolismo do cobre no homem**, 1995.

SZEFER, P., SZEFER, K. **Metals in molluscs and associated bottom sediments of the southern Baltic**. Helgol. Meeresunters. n.44, p.411–424, 1990.

STURESSON, U. **Lead enrichment in shells of *Mytilus edulis***. Ambio. n.5, p.253–256, 1976.

SCARDINO, A., De NYS, R., ISON, O., O’CONNOR, W., STEINBERG, P.

**Microtopography and antifouling properties of the shell surface of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Pinctada imbricata***. Biofouling. n.19, p. 221–230, 2003.

SENG, L., SUN, L.P. **Environmental biomonitoring: the possibility of using preserved specimen**. Malays. J. Anal. Sci. n.7, p.323–326, 2001.

SLOMAN, K. A. **Effects of trace metals on salmonid fish: the role of social hierarchies**.

Appl. Anim. Behav. Sci. n.104 p.326–345, 2007.

SLOMAN, K. A., BAKER, D. W., WOOD, C. M., and MCDONALD, G. **Social interactions affect physiological consequences of sublethal copper exposure in rainbow trout,**

***Oncorhynchus mykiss***. Environ. Toxicol. Chem. n.21 p.1255–1263, 2002.

SUTTON AM, HARVIE A, COCKBURN A, et al. **Copper deficiency in the preterm infant of very low birthweight: four cases and a reference range for plasma copper**. Arch Dis Child.

n.60 p.644–51, 1985.

TAINER, J.A et. al. **Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase**.

Nature, v. 306, p.284-7, 1983. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/306284a0>.

Acesso em: 10 jul. 2019.

TAPIERO, H. et al. **Trace elements in human physiology and pathology**. Copper.

Biomedicine and Pharmacotherapy, v. 57, p. 386-398, 2003.

TURNLUND, J. R. Human whole-body copper metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, p. 960-964, 1998. Suplemento.

TAYLOR, C.G., BETTGER, W.J., BRAY, T.M. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. **Journal of Nutrition, Bethesda**, v.118, n.5, p.613-621, 1988.

WAPNIR, R. A. Copper absorption and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Manhasset, v. 67, p. 1054-1060, maio 1998. Suplemento 5. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcn/article/67/5/1054S/4666227>. Acesso em: 10 jul. 2019.

WHO. **Copper: Environmental Health Criteria 200**, Geneva, World Health Organization, 1998.

WIDDOWSON EM, DICKERSON JWT. **Chemical composition of the body**. In: COMAR CL, BRONNER F, eds. Mineral metabolism. Vol 2. New York: Academic Press. n.47, p.1–247, 1964.

WIDDOWSON EM, DAUNCEY J, SHAW JCL. **Trace elements in foetal and early postnatal development**. Proc Nutr Soc; n.33, p.275–84, 1974.

WILLIAMS DM. **Copper deficiency in humans**. Semin Hematoln.20. p.118–28,1983.

ZUYKOV, M.A., PELLETIER, E., ROULEAU, C., POPOV, L., FOWLER, S.W., ORLAVA, M **Autoradiographic study of <sup>241</sup>Am distribution in the shell of the freshwater zebra mussel *Dreissena polymorpha* exposed under laboratory conditions**. Microchim. Acta v.167, p.173–178, 2009.

ZUYKOV, M.A., PELLETIER, E., ROULEAU, C., POPOV, L., FOWLER, S.W., ZUYKOV, M., PELLETIER, E., ST-LOUIS, R., CHECA, A., DEMERS, S. **Biosorption of thorium on the external shell surface of bivalve mollusks: The role of shell surface microtopography**. Chemosphere. n.86, p.680–683, 2012.

## 8 ANEXOS

### 8.1 ANEXO I

#### QUESTIONÁRIO INDIVIDUAL

Número controle: |\_2018\_| |\_\_ \_\_| |\_\_ \_\_ \_\_|

Ano Mês Controle

#### IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Email: \_\_\_\_\_

Telefone 01: \_\_\_\_\_

Telefone 02: \_\_\_\_\_

#### DADOS GERAIS

**1 - Sexo:**  Masculino **2- Data de nascimento** |\_\_ \_\_| |\_\_ \_\_| |\_\_ \_\_|

Feminino\* N<sup>o</sup> Carteira de Identidade: \_\_\_\_\_

\* Está amamentando ou grávida?

Sim, estou grávida |  Sim, estou amamentando

Não, não estou grávida nem amamentando |  NS/NR

**3 - Estado civil:**  Solteiro  Noivo  Casado  União Estável

Divorciado / Separado  Viúvo

**4 - Tem filhos?**  Não  Sim. Quantos?  Filhos

**5 - Escolaridade:**  Não foi à escola |  Ensino fundamental - (1º. grau) incompleto

Ensino fundamental completo |  Ensino médio - (2º. grau) incompleto

Ensino médio - (2º. grau) completo |  Ensino superior incompleto

Ensino superior completo |  Pós-graduação

**6 - Qual o tipo de fornecimento de água potável:**

PVC (plástico) |  Outros: \_\_\_\_\_

Metal (chumbo, cobre) |  NS/NR

**7 - Quanto tempo reside nesta localidade:** I\_\_ I anos I\_\_ I meses

**8 - Quanto tempo reside nesta casa:** I\_\_ I anos I\_\_ I meses

**9 - Próximo a sua residência existe:**

Fundição/ corte de metais  Sim  Não  NS/NR  
 Polimento e refinamento de metais  Sim  Não  NS/NR  
 Indústria de cerâmica  Sim  Não  NS/NR  
 Fábrica de bateria  Sim  Não  NS/NR  
 Fabricação/decoração de vidros e cristais  Sim  Não  NS/NR  
 Atividade de soldagem  Sim  Não  NS/NR  
 Fabricação de fumo  Sim  Não  NS/NR  
 Atividades de jateamento  Sim  Não  NS/NR  
 Lavoura  Sim  Não  NS/NR  
 Lixão  Sim  Não  NS/NR  
 Estaleiro  Sim  Não  NS/NR  
 Galvanoplastia (tratamento de superfície com metal)  Sim  Não  NS/NR  
 Outros: \_\_\_\_\_

## HÁBITOS DE VIDA

**10 - Já fumou alguma vez na vida (independente da quantidade)?**  Sim  Não (passe 18)

**11 - Fuma atualmente?**

Sim  Não\*\***Há quanto tempo parou de fumar?**  Anos  Meses  NS/NR

**\*Quando fumava, quantos cigarros fumava em média por dia?**

Cigarros por dia  Maços por dia  NS/NR/ Variável

**12 – Fuma há/fumou durante quanto tempo?**  Anos  Meses  NS/NR

**13 – Fuma diariamente?**  Sim  Não (passe 18)

**14 - Quantos cigarros por dia?**  Cigarros por dia  Maços por dia  
 NS/NR/Variável

**15 - Qual o tipo de cigarro que mais fuma?**

Cigarro industrializado com filtro  Cigarro industrializado sem filtro

Cigarro de palha  Outros \_\_\_\_\_ (especifique)

**16 - Entra em contato com fumaça de cigarro de outras pessoas em casa, trabalho ou escola?**  Sim  Não

**17 - Quantas vezes por semana consome bebida alcoólica?**

Todos os dias  1 a 4 dias  5 a 6 dias

Quase nunca     Nunca (passe para 22)     NS/NR (passe para 22)

**18 - Nos últimos 30 dias, quantos dias na semana ou mês realizou ingestão de bebida alcoólica?**     Dias por semana     Dias por mês     NS/NR

**19 - O que você gosta de fazer nos momentos de lazer?**

Especifique: \_\_\_\_\_  NS/NR

**20 – Você pratica atividade física (ex. academia, musculação, caminhada)?**

Sim Especifique: \_\_\_\_\_  Não

**21 – Você faz uso de suplementos alimentares (vitamínicos e minerais, tipo Centrum)?**

Sim Especifique: \_\_\_\_\_  Não

#### DADOS LABORAIS

**22 - Trabalha ou tem alguma atividade remunerada (incluindo: atividade principal e outras atividades (“bico”)?**  Sim  Não (passe 24)

**23 - Considerando salário, pensão, aluguel, bico e outros, qual sua faixa de renda?**

Até R\$ 500,00  De R\$ 500,00 a R\$ 1000,00

De R\$ 1000,00 a R\$ 2000,00  De R\$ 2000,00 a R\$ 3000,00

Acima de R\$ 3000,00  NS/Recusa

**24 - Por que não trabalha?**

Desempregado  Aposentado  Estudante (passe 42)

Do lar (passe 35)  Não pode trabalhar por problemas de saúde

Outros \_\_\_\_\_

**25 - Qual sua principal ocupação?** \_\_\_\_\_

**26 – Há quanto tempo exerce essa ocupação?**     anos  meses

**27 - Qual a carga horária semanal nesta ocupação?**    I\_\_I horas/semana

**28 - Faz uso de equipamentos de proteção individual como luva e/ou máscara e/ou avental?**

I\_\_I Sempre – Especifique \_\_\_\_\_

I\_\_I Não I\_\_I Raramente – Especifique \_\_\_\_\_

**29 – Onde lava sua roupa de trabalho?**

I\_\_I Casa    I\_\_I A empresa manda lavar    I\_\_I Lavanderia

I\_\_I Outro. Especifique; \_\_\_\_\_

**30 – Você fez exame médico admissional? (Exame realizado para entrar na empresa)**

Sim     Não

**31 – Você faz exames médicos periódicos?**  Sim  Não

**32 – Exerce alguma outra atividade (“bico”)?**

Sim – Qual e por quanto tempo?: \_\_\_\_\_  Não

**33 - Já trabalhou com outra ocupação?**  Sim  Não (passe 37)

**34 - Qual outra ocupação?** \_\_\_\_\_

**35 - Por quanto tempo?**  anos  meses

**36 - Já trabalhou em?**

Fundição/ corte de metais  Sim  Não  NS/NR

Polimento e refinamento de metais  Sim  Não  NS/NR

Indústria de cerâmica  Sim  Não  NS/NR

Fábrica de bateria  Sim  Não  NS/NR

Fabricação/decoração de vidros e cristais  Sim  Não  NS/NR

Atividade de soldagem  Sim  Não  NS/NR

Fabricação de fumo  Sim  Não  NS/NR

Atividades de jateamento  Sim  Não  NS/NR

Lavoura  Sim  Não  NS/NR

Lixão  Sim  Não  NS/NR

Estaleiro  Sim  Não  NS/NR

Galvanoplastia (tratamento de superfície com metal)  Sim  Não  NS/NR

Outros: \_\_\_\_\_

**37 - Por quanto tempo?**  anos  meses

**38- Já teve contato com metais pesados?**  Sim Qual? \_\_\_\_\_  Não

NS/NR

### SINAIS E SINTOMAS

**39 - Você já apresentou algum dos itens abaixo relacionados?**

Anemia 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Erupção cutânea 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Pneumonia 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Edema pulmonar 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Bronquite 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Asma 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Outra doença respiratória 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Qual? \_\_\_\_\_

Distúrbio do sono 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Distúrbio do TGI 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Instabilidade emocional (irritabilidade, humor instável)

1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Dores musculares 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Distúrbios dos movimentos 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

(tremor, lentidão, redução da firmeza)

Distúrbio de fala (dificuldade) 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Tem caso de Câncer na Família 1  Sim Qual tipo? \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_

2  Não 9  NS/NR

Diminuição da libido (desejo sexual) 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Você ou seu cônjuge: Aborto espontâneo ou parto natimorto 1  Sim 2  Não 9  NS/NR

Você e seu cônjuge tiveram dificuldades em gerar filhos ou foram diagnosticados como estéreis?

1  Sim 2  Não

Alguém da família apresenta algum defeito de nascimento, problemas genéticos ou doenças hereditárias? 1  Sim Parentesco: \_\_\_\_\_ 2  Não,

#### HÁBITO ALIMENTAR

**40 – Você come carne?**  Sim  Não

**41 - Você come apenas vegetais?**  Sim  Não

**42 - Você usa adoçante?**  Sim  Não

**43 - Você consome refrigerante?**  Sim  Não

**44 - Você toma café?**  Sim  Não