



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00054

EVALUACION NEUROPSICOLOGICA
DE UNA POBLACION
AMBIENTALMENTE EXPUESTA A
MANGANESO

En México, D.F., se presentaron a las 9:00 horas del día 5 del mes de noviembre del año 2008 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. LUIS CAMILO RIOS CASTAÑEDA
DR. ABEL SANTAMARIA DEL ANGEL
DRA. MARIA CONCEPCION GUTIERREZ RUIZ
DR. RAMON GONZALEZ CAMARENA
DR. JAVIER VELAZQUEZ MOCTEZUMA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
DIRECCIÓN DE SISTEMAS ESCOLARES



Casa abierta al tiempo



Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

DE: OLGA YANETH RODRIGUEZ AGUDELO

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Olga Yaneth Rodríguez
OLGA YANETH RODRIGUEZ AGUDELO
ALUMNO

APROBAR

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBS

DR. JOSE FRANCISCO FLORES PEDROCHE

PRESIDENTE

DR. LUIS CAMILO RIOS CASTAÑEDA

VOCAL

DR. ABEL SANTAMARIA DEL ANGEL

VOCAL

DRA. MARIA CONCEPCION GUTIERREZ RUIZ

VOCAL

DR. RAMON GONZALEZ CAMARENA

SECRETARIO

DR. JAVIER VELAZQUEZ MOCTEZUMA



UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD

EVALUACION NEUROPSICOLÓGICA DE UNA POBLACIÓN AMBIENTALMENTE
EXPUESTA A MANGANESO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A:
OLGA YANETH RODRIGUEZ AGUDELO

TUTOR: DR. LUIS CAMILO RÍOS CASTAÑEDA

ASESOR: DR. CARLOS SANTOS-BURGOA

ASESOR: DRA. MARIA CONCEPCION GUTIERREZ RUIZ

MEXICO D.F .

NOVIEMBRE 2008

“El doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana esta inscrito en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) de CONACYT como programa consolidado”.

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las Unidades
de Iztapalapa y Xochimilco aprobó la tesis

EVALUACION NEUROPSICOLÓGICA DE UNA POBLACIÓN AMBIENTALMENTE
EXPUESTA A MANGANESO

que presentó

Olga Yaneth Rodríguez Agudelo

El día 5 de noviembre de 2008

Jurado:

Presidente: Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda

Vocal: Dra. María Concepción Gutiérrez Ruiz

Vocal: Dr. Abel Santamaría Del Ángel

Vocal: Dr. Ramón González Camarena

Secretario: Dr. Javier Velázquez Moctezuma

Esta tesis forma parte del proyecto de investigación Impacto en la salud del ecosistema por actividades antropogénicas en una cuenca manganesífera, apoyado por el International Development Research Centre (IDRC) de Canadá. Proyecto Número: 100662

Equipo de trabajo

Instituto Nacional de Salud Pública

Dr. Horacio Riojas Rodríguez

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda

Dr. Sergio Montes López

Programa Universitario del Medio Ambiente, UNAM

Dra. Irma Rosas Pérez

Instituto de Geología, UNAM

Dra. Christine Siebe Grabach

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento a las autoridades del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, MVS, al Instituto Nacional de Salud Pública y a la Secretaría de Salud del Estado de Hidalgo por el apoyo recibido para la realización de este trabajo.

Al Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda, por iniciarme en esta área de la investigación, por su confianza y apoyo durante el tiempo de mis estudios de doctorado.

A la Dra. María Concepción Gutiérrez y al Dr. Carlos Santos Burgoa, por sus valiosas aportaciones a este trabajo y por su apoyo.

A los miembros del Jurado: Dr. Javier Velázquez Moctezuma, Dr. Abel Santamaría y al Dr. Ramón González Camarena, por sus comentarios y correcciones que enriquecieron este trabajo.

Un especial agradecimiento al Dr. Horacio Riojas-Rodríguez, por su apoyo y amistad y a todo el equipo de trabajo: Dra. Irma Rosas, Dra. Cristina Siebe, Dr. Sergio Montes, ya que gracias al arduo trabajo y coordinación se han logrado cumplir los objetivos propuestos para proyecto.

A los integrantes del Departamento de Neuropsicología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía; Mireya, Rodolfo, Francisco, Alejandra, MUCHAS GRACIAS.

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo con todo mi amor a mis hijas, Andrea y Nathalia, ya que son ellas las que me impulsan día a día y son la luz en mi camino.

A Raúl por los buenos momentos compartidos, gracias su apoyo, cariño y compañía.

A mis padres y hermanos, por que a pesar de la distancia me han apoyado y creído en mí, por contar con ellos incondicionalmente en todo momento.

ÍNDICE

I. ANTECEDENTES.....	1
1. Aspectos generales del manganeso.....	1
Fuentes de exposición.....	3
Límites de exposición.....	4
Farmacocinética del Mn	5
<i>Vías de exposición</i>	8
<i>Mecanismos de Absorción</i>	10
<i>Distribución</i>	11
<i>Concentraciones Tisulares</i>	11
<i>Eliminación</i>	13
2. Transporte y distribución del Mn al Sistema Nervioso Central	13
Zonas cerebrales de afectación del Mn.....	16
Patogénesis	16
Neurotoxicidad del Mn en humanos.....	17
3. Efectos neuropsicológicos de la exposición al Mn.....	23
4. Características del ecosistema	29
II. JUSTIFICACION	31
III. HIPÓTESIS	32
IV. OBJETIVOS.....	32
1. Objetivo General.....	32
2. Objetivos Particulares.....	32
V. MATERIAL Y METODOS	33
1. Población estudiada	33
Criterios de Inclusión	34
Criterios de exclusión.....	34
Tamaño de la muestra.....	34
Ubicación Geográfica de las localidades.....	35
2. Instrumentos de Medición	37
Consentimiento informado	38
Cuestionario de condiciones socio-económicas	38
Pruebas neuropsicológicas.....	38
<i>Pruebas Motoras</i>	39
<i>Pruebas cognitivas</i>	41
3. Marcadores de exposición ambiental	43

4. Muestras de aire.....	44
Equipos de muestreo.....	44
5. Análisis de Manganeso en Sangre.....	46
VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	48
VII. RESULTADOS.....	50
1. Descripción de la población.....	50
2. Características de las viviendas.....	51
3. Resultados de Mn Ambiental (Suelo, cosechas y agua potable).....	52
4. Resultados de Mn en aire.....	54
5. Resultados de Mn en sangre.....	58
6. Datos descriptivos de las pruebas motoras.....	66
7. Asociación entre exposición a Mn y pruebas motoras.....	67
8. Asociación entre exposición a Mn y pruebas cognitivas.....	70
VIII. DISCUSION.....	72
IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	81
IX. REFERENCIAS.....	83
X. ANEXOS.....	98

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Propiedades físico químicas del Mn.....	2
Tabla 2.	Resumen de datos para la dosis de referencia de Mn vía inhalada.....	5
Tabla 3.	Concentraciones titulares del Mn.....	12
Tabla 4.	Distribución de la muestra poblacional incluida en el estudio por comunidad..	35
Tabla 5.	Distancia de las comunidades a la planta de procesamiento.....	37
Tabla 6.	Pruebas cognitivas seleccionadas para el estudio.....	42
Tabla 7.	Datos socio-demográficos por comunidad.....	50
Tabla 8.	Concentraciones de Mn en muestras de suelo, agua potable, pasto y maíz por comunidad.....	52
Tabla 9.	Número de personas asignadas a cada monitor por comunidad.....	54
Tabla 10.	Concentraciones de Mn en aire y PM10.....	56
Tabla 11.	Concentraciones de Mn en aire y PM10 de acuerdo a la distancia de las comunidades con las plantas de manganeso.....	58
Tabla 12.	Concentraciones promedio de manganeso en sangre por comunidad.....	59
Tabla 13.	Promedio de concentraciones de Mn en sangre en comunidades cercanas vs. Lejanas con respecto a las plantas procesadoras.....	61
Tabla 14.	Concentraciones promedio de plomo en sangre por comunidad.....	62
Tabla 15.	Modelo de regresión lineal para explicar la variabilidad en las concentraciones de manganeso en sangre.....	65
Tabla 16.	Resultados de la asociación entre exposición a Mn y pruebas motoras utilizando diferentes puntos de corte.....	69
Tabla 17.	Análisis de regresión logística tomando como variable independiente las concentraciones de Mn en aire y como variables dependientes las pruebas cognitivas.....	71

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Ruta farmacocinética del Mn.....	7
Figura 2.	Distrito minero, localización de las comunidades que fueron estudiadas, los afloramientos de Mn y las ubicaciones de las plantas procesadoras.....	36
Figura 3.	Bomba universal conectada con el monitor ambiental personal.....	45
Figura 4.	Niveles de Mn en aire distribuidos por comunidad.....	57
Figura 5.	Niveles de Mn en sangre distribuidos por comunidad.....	60
Figura 6.	Niveles de plomo en sangre por comunidad.....	63
Figura 7.	Asociación entre niveles de Mn en aire y Mn en sangre.....	66

RESUMEN

La sobre-exposición a manganeso (Mn) produce neurotoxicidad (un síndrome parkinsoniano) y alteraciones psiquiátricas ("locura mangánica"). En estudios previos se han documentado alteraciones motoras y cognitivas asociadas con la exposición a Mn en ambientes laborales. Sin embargo, existen pocos estudios acerca de los efectos de la exposición ambiental en poblaciones no ocupacionales. El objetivo de este estudio fue estimar el riesgo de alteraciones motoras y cognitivas relacionadas con la exposición a Mn en personas residentes de un distrito manganesífero en México. Se estudiaron 288 personas (169 hombres y 120 mujeres) de ocho comunidades a diferentes distancias de las plantas de extracción o procesamiento de Mn en el distrito de Molango, en el estado de Hidalgo, México. Se midieron concentraciones de Mn en partículas suspendidas en aire, agua, suelos y cosechas, y se evaluaron las posibles rutas de exposición a Mn. Se tomaron muestras de sangre para determinar concentraciones de Mn. Se utilizó la batería "Esquema de Diagnóstico Neuropsicológico" de Ardila y Ostrosky-Solís para evaluar funciones motoras, y se aplicó una batería neuropsicológica que explora funciones cognitivas (atención, memoria, lenguaje y visoconstrucción), así como dos escalas de depresión. El Mn extraído de suelos tuvo un rango de entre 6 y 280 mg/kg⁻¹, y las medias fueron mayores al estar cerca de las plantas de extracción o procesamiento de Mn. Las concentraciones de Mn en aire mostraron un rango de entre 0.003 y 5.86 µg/m³, el valor de la media fue de 0.42 µg/m³, la mediana fue de 0.10 µg/m³ y el valor promedio (media geométrica) fue de 0.13 µg/m³. La media de las concentraciones de Mn en sangre fue de 10.16 µg/L, y la media geométrica de 9.44 µg/L, con un rango de entre 5.0 - 31.0 µg/L. No se encontró asociación entre las concentraciones de Mn en sangre y las pruebas motoras y cognitivas.

Las concentraciones de Mn en aire se correlacionaron con las concentraciones de Mn en sangre ($R=0.199$, $p<0.01$).

Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre las concentraciones de Mn en aire y las pruebas motoras que evalúan la coordinación de dos movimientos ($RM=1.99$; IC 95%=1.15,3.43) y cambios en la posición de movimientos de las manos ($RM= 3.09$; IC 95%= 1.07-8.92). También se encontró una asociación con pruebas que evalúan reacciones conflictivas (una tarea que explora la regulación verbal de los movimientos) ($RM= 2.30$; IC 95%= 1.00-5.28).

Las concentraciones de Mn en aire se asociaron con alteraciones de la atención ($RM= 1.75$; IC 95%= 1.00-3.06).

De acuerdo con los resultados, parece que las personas que viven cerca de minas y plantas de procesamiento de Mn sufren de un déficit motor incipiente y una alteración en la atención como resultado de la inhalación de polvos ricos en Mn.

ABSTRACT

Overexposure to manganese (Mn) causes neurotoxicity (a Parkinson-like syndrome) and psychiatric damage (“manganese madness”). Motor and cognitive impairment associated with exposure to Mn in the workplace has been documented in previous studies. However, there are few studies about the effects of environmental exposure of non-occupational populations. The objective of this study was to estimate the risk of motor and cognitive alterations related to Mn exposure in people living in a mining district in Mexico. We studied 288 individual people (168 men and 120 women) from eight communities at various distances from manganese extraction or processing facilities in the district of Molango, in Hidalgo State, Mexico. We measured Mn concentrations in airborne particles, water, soil and crops, and evaluated the possible routes of Mn exposure. We also took samples of people’s blood and determined their concentrations of Mn and lead (Pb). We used the neuropsychological battery “Esquema de Diagnóstico Neuropsicológico” by Ardila and Ostrosky-Solís to evaluate motor functions, and a neuropsychological battery, which explores cognitive functions (attention, memory, language and visuoconstruction), was applied, as well as two depression scales.

Extracted Mn in soils ranged between 6 and 280 mg kg⁻¹ and means were largest when being close to Mn extraction or processing facilities. Air Mn concentration ranged between 0.003 and 5.86 µg/m³; the mean value was 0.42 µg/m³ and the median was 0.10 µg/m³, the average value (geometric mean) resulted to be 0.13 µg/m³. Mean blood manganese concentration was 10.16 µg/L, and the geometric mean was 9.44 µg/L, with a range between 5.0 – 31.0 µg/L. We found no association between blood Mn concentrations and motor and cognitive tests. Air Mn concentrations were correlated with blood Mn concentrations (R=0.199, p<0.01).

There was a statistically significant association between air Mn concentrations and motor tests that assessed the coordination of two movements (RM=1.99; IC 95%=1.15,3.43) and position changes in hand movements (OR= 3.09; 95% CI= 1.07-8.92). An association with tests evaluating conflictive reactions (a task that explores verbal regulations of movements) was also found (OR= 2.30; 95% CI= 1.00-5.28).

Air Mn concentrations were associated with attention impairment (OR= 1.75, 95% CI= 1.00-3.06).

Blood Mn concentrations were not associated with any cognitive test.

It seems from these results that people living close to the Mn mines and processing plants suffer from an incipient motor deficit and attention impairment as a result of their inhaling Mn-rich dust.

I. ANTECEDENTES

1. Aspectos generales del manganeso

El manganeso (Mn) es un elemento relativamente abundante en la corteza terrestre, la cual contiene en promedio 950 mg kg⁻¹ de Mn. Sin embargo, existen diferencias notables entre las distintas rocas (p.e. las areniscas contienen entre 10 a 100 mg kg⁻¹ de Mn, mientras que las rocas basálticas tienen 1500 mg kg⁻¹ de Mn en promedio). En los organismos vivos se encuentra en bajas concentraciones, por lo que es considerado un elemento traza esencial. Se conocen once estados de oxidación del Mn, de -3 a +7 (Environmental Protection Agency, US EPA, 1997). Se trata de un elemento químico perteneciente al grupo de los metales de transición, de color blanco grisáceo, con un alto grado de dureza y de naturaleza quebradiza. Las formas más comunes en las que el Mn se presenta son la pirusita (MnO₂), la bromita (3Mn₂O₃), la hausmanita (Mn₃O₄), el ferromanganeso, el silicomanganeso y el Mn orgánico (ATSDR, 2000).

El uso principal del Mn es la fabricación de aleaciones de hierro (Fe), obtenidas mediante el tratamiento de la pirusita en altos hornos con Fe y carbono (C). Las aleaciones utilizadas para fabricar aceros son las más importantes. En pequeñas cantidades, el Mn se añade al acero como antioxidante, y en grandes cantidades se emplea para formar una aleación muy resistente al desgaste.

Entre las aleaciones no ferrosas de Mn se encuentra el bronce de Mn (compuesto de Mn, cobre (Cu), estaño (Sn) y zinc (Zn)), resistente a la corrosión del agua del mar, y que se utiliza para la fabricación de hélices de barcos y torpedos; y la manganina (compuesta de Mn, Cu y níquel (Ni)), usada en forma de cables para mediciones eléctricas de alta precisión, dado que su conductividad eléctrica apenas varía con la temperatura.

Otras formas de combinación de Mn con utilidad industrial son el sulfato de Mn ($MnSO_4$), que se utiliza en tintes para el algodón, el permanganato de sodio ($NaMnO_4$) y el permanganato de potasio ($KMnO_4$) que se emplean como oxidantes y desinfectantes. En la medicina, a modo de permanganato de potasio como bactericida; como fungicida en cereales, viñedos y frutales; como suplemento alimenticio para animales; fertilizante, colorante, limpiador de metales, como conservador de flores y frutas, lubricante, electrolíticos, anticorrosivos y en organometálicos y finalmente en la industria para la fabricación de pilas y baterías (Keenan, 1997).

La Tabla 1 muestra las propiedades fisicoquímicas del Mn.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del Mn (US EPA, 1997)

Peso Molecular	54.94
Número atómico	25
Punto de Ebullición	1,962 °C
Punto de Fusión	1,244 °C
Solubilidad en agua	Insoluble
Otras solubilidades	Se disuelve en ácidos minerales. Es soluble en soluciones acuosas de bicarbonato de sodio o potasio Aumenta la solubilidad en el medio ácido.
Presión de Vapor (mm/Hg)	0 mmHg
Densidad de Vapor	7.47 a 6.28
Gravedad Específica	7.20 (metal)
Apariencia	Metal grisáceo, ennegrecido cuando se oxida
Estado físico	Sólido
Vida Media corporal	37.5± 7días (Finley y cols., 1994)

El Mn se encuentra en el 0.085% de la corteza terrestre, y es el cuarto metal más utilizado mundialmente (8 millones de toneladas al año), después del hierro (Fe), el aluminio (Al) y el cobre

(Cu). No se encuentra de forma pura. Existen 300 depósitos de Mn en el mundo, con más de 44% del metal, principalmente en Australia, Brasil, Gabón y Sudáfrica. México se encuentra entre los cinco primeros productores de Mn del mundo, en donde es usado principalmente para consumo interno, y una menor parte es exportado en forma de nódulos (Riojas-Rodríguez, 2004).

Fuentes de exposición

El Mn es un elemento natural del medio ambiente que se encuentra en el suelo, el agua y los alimentos y puede representar un contaminante importante por su presencia en el aire, tanto por fuentes naturales como por su utilización en la minería y la industria. La concentración natural de Mn en el aire es baja, entre 0.004 y 0.030 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. El Mn en el aire se asocia con otras partículas, originando una masa de diámetro promedio de 2.5 μm , con gran poder de dispersión.

Los niveles de Mn en el agua del océano suelen ser bajos y estables, a diferencia de los niveles en ríos y en agua potable, en los que la variación se da en función de las características geográficas, y de la contaminación del aire y del suelo. En los ríos se han reportado concentraciones que varían entre 0.02 $\mu\text{g}/\text{l}$ y 530 $\mu\text{g}/\text{l}$. En los océanos el promedio de Mn encontrado oscila entre 1 y 6 $\mu\text{g}/\text{l}$. Se ha reportado que cantidades superiores a las señaladas son causadas por la contaminación industrial (ATSDR, 2000).

El Mn se encuentra en el suelo en concentraciones que van de 500 hasta 900 mg/kg , dependiendo de la localización geográfica, las actividades mineras y la contaminación ambiental.

El ambiente ocupacional suele ser la principal fuente de contaminación. Las zonas mineras son las que se han reportado con mayores niveles de Mn en aire, elevando las concentraciones hasta 0.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (ATSDR, 2000). En el caso de la industria, se menciona que aquellas actividades

relacionadas con aleaciones de bronce, Níquel, Cobre y Aluminio, cerámica, desinfectantes, electrodos, fertilizantes son de especial riesgo. La agricultura puede ser considerada como actividad de riesgo, por la utilización del Mn en fertilizantes y fungicidas.

Límites de exposición

Los límites para la exposición a Mn se han establecido a partir de las diferentes fuentes y la suma total de las cantidades con que cada una de éstas contribuye de manera efectiva a la cantidad que ingresa y se absorbe en el organismo. Sin embargo, no se han podido establecer límites precisos de exposición al Mn, debido a que es un mineral esencial, a las diferentes formas de medirlo, y a los niveles y criterios sanitarios utilizados por los diferentes países (Peters y cols., 2003).

Los límites ambientales establecidos se han propuesto de acuerdo con las concentraciones verificadas en diversas zonas geográficas en donde no se han detectado efectos adversos a la salud de la población expuesta. Los reglamentos y recomendaciones ambientales pueden ser expresados como “niveles que no deben excederse” en el aire, agua, suelo o alimentos y se basan generalmente en niveles que afectan a los animales. Estos niveles luego se tienen que ajustar para la protección de seres humanos. Los límites ambientales necesitan de constantes evaluaciones, a diferencia de los límites ocupacionales. (ATSDR, 2000).

La Comunidad Europea y la EPA (Environmental Protection Agency) establecen un límite permisible de 0.05 mgL^{-1} para Mn en agua potable; la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda un máximo de 0.5 mgL^{-1} (Zartner-Nylas. 2002). En la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1- 1994 que establece los límites máximos permisibles de diversos elementos y compuestos en agua para uso y consumo humano, se establecen 0.15 mgL^{-1} como concentración

máxima permisible de manganeso.

En cuanto a las concentraciones en aire, los resultados de las evaluaciones de riesgo recomiendan concentraciones máximas de 0.05 µg/m³ promedio en población no ocupacionalmente expuesta, de acuerdo con los supuestos señalados en la tabla 2.

Tabla 2. Resumen de datos para la dosis de referencia de manganeso vía inhalada

Efecto crítico	Exposiciones*	UF	MF	RFC
Daño en las funciones neuroconductuales	NOAEL: None LOAEL: 0.15 mg/cu.m	1000	1	5E-5 mg/cu.m 0.05 mcg/m ³
Exposiciones ocupacionales a bióxido de manganeso (Roels y cols., 1992)	LOAEL(ADJ):0.05mg/cu.m LOAEL(HEC): 0.05 mg/cu.m			
Daño en las funciones neuroconductuales	NOAEL:None LOAEL: 0.97 mg/cu.m			
Exposiciones ocupacionales a sales y oxidos (Roels y cols., 1987)	LOAEL(ADJ):0.34mg/cu.m LOAEL(HEC): 0.34 mg/cu.m			

*UF= factores de incertidumbre

RFC: Reference Concentration for Chronic Inhalation Exposure

LOAEL: Nivel mínimo de efectos adversos observable

NOAEL: Nivel de exposición que representa el máximo nivel probado al cual no se observan efectos tóxicos.

<http://www.epa.gov/iris/subst/0373.htm>

Farmacocinética del Mn

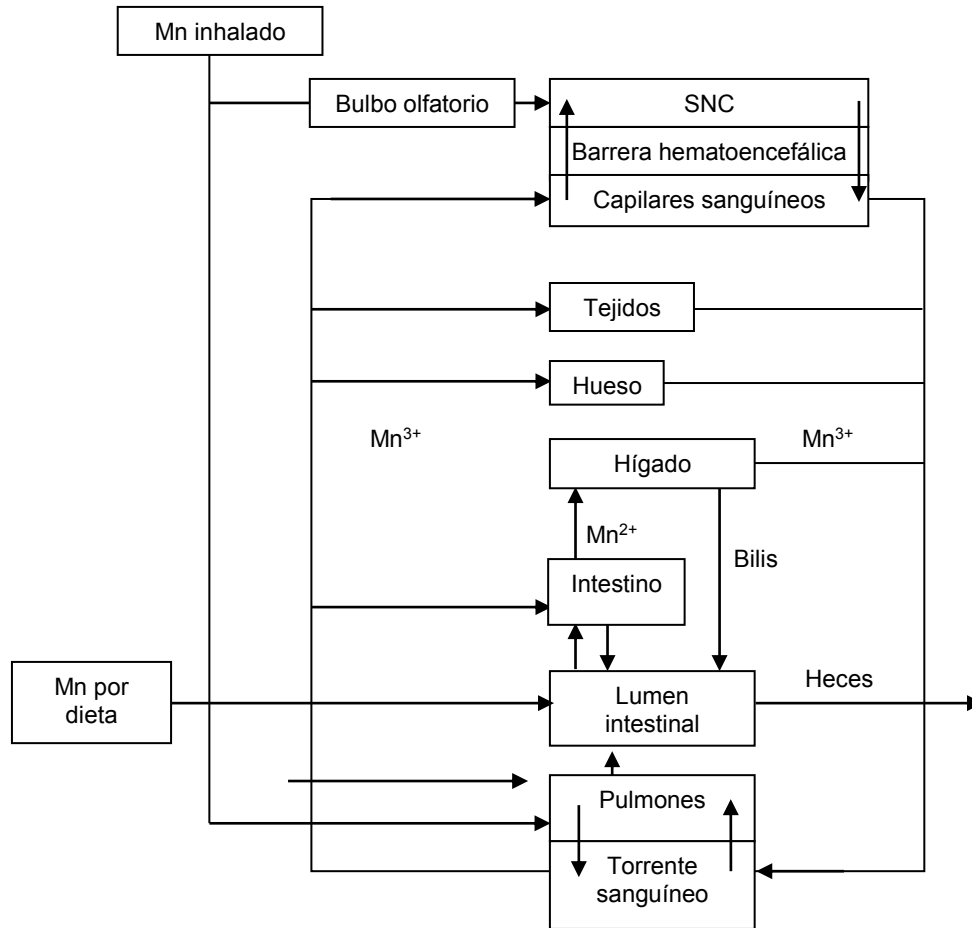
El Mn es un metal esencial para la vida, ya que participa activamente en reacciones enzimáticas importantes para el funcionamiento celular; en específico, actúa como cofactor en las enzimas superóxido dismutasa (SOD), piruvato carboxilasa (PC) y glutamina sintetasa, entre otras (Prohaska, 1987).

La deficiencia de Mn en el ser humano causa alteraciones en el crecimiento, anormalidades del esqueleto, deficiencias reproductivas y múltiples problemas del metabolismo (Keen, 1995). Otros efectos relacionados con la deficiencia de Mn son reducción de tiempo de coagulación, dermatitis, cambios en el color del cabello y bajos niveles de colesterol (ATSDR, 2000).

Las principales alteraciones provocadas por la pérdida de la homeostasis del Mn se encuentran a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), por lo que los esfuerzos por caracterizar los mecanismos de absorción, distribución, acumulación y eliminación del metal no sólo se enfocan a todo el organismo, sino también a su tránsito por el Sistema Nervioso (SN) (Keen, 1995).

Andersen y cols. (1999) establecen un modelo farmacocinético del Mn de acuerdo con lo que se sabe hasta el momento, derivado de investigaciones con animales y seres humanos, Figura 1.

Figura 1. Ruta farmacocinética del Mn



Las dos vías principales de exposición del metal son por vía oral e inhalada, y su absorción se presenta en intestino y pulmones, respectivamente. El hígado representa un buen regulador del Mn en el organismo, en donde el metal puede pasar de su estado de oxidación $2+$ a $3+$, para ser distribuido al resto de los tejidos. El Mn inhalado puede ingresar directamente al SNC a través del bulbo olfatorio, lo que representa un mecanismo de transporte importante en cuanto al riesgo de neurotoxicidad.

Vías de exposición

Un compuesto tóxico puede entrar al cuerpo principalmente por vía inhalada, oral o dérmica, en el caso del Mn una de las principales vías fisiológica de ingreso al organismo es la vía oral. La forma de ingreso más importante para el ser humano suelen ser los alimentos o el agua contaminada con Mn, se ha reportado que la cantidad de Mn necesaria y segura para mantener el balance del metal en el ser humano es de 2 a 5 mg/día en la dieta (Greger y cols., 1990). Los cereales, las nueces, el arroz, las papas y el té son alimentos responsables de una aportación importante de Mn en la cantidad de ingesta diaria. Las cantidades de Mn en alimentos pueden variar de 0.1 mg/kg hasta 30-35 mg/kg.

La inhalación es otra vía importante de exposición a Mn, especialmente por representar el mecanismo de entrada de mayor riesgo para el organismo particularmente para el Sistema Nervioso Central (SNC). (Andersen y cols., 1999).

En estudios con animales, se ha reportado que el Mn puede tener una vía de entrada directa al SNC cuando se administra a través de la vía olfatoria. Se estiman incrementos de hasta tres órdenes de magnitud en el contenido de Mn en el bulbo olfatorio y no así en otras zonas cerebrales, en comparación con el metal administrado por la vía intraperitoneal (Tjälve y Henriksson., 1997). El Mn transportado a través de la mucosa nasal llega directamente al bulbo olfatorio, en donde tiene contacto cercano con estructuras cerebrales (Andersen y cols., 1999; Tjälve y Henriksson., 1997).

El sistema olfatorio está formado por el epitelio olfatorio, bulbos y tractos olfatorios, junto con las áreas olfatorias de la corteza cerebral, conformadas por la corteza piriforme (formada a su vez por la corteza del uncus, la corteza entorrinal y el limen insular) y los núcleos corticomediales de la amígdala (Barr y Kiernan, 1994). La corteza olfatoria primaria tiene múltiples áreas de proyección,

entre las que se encuentran el hipotálamo, tálamo e hipocampo, y recibe proyecciones de la banda diagonal, el locus coeruleus y los núcleos del rafé.

La toma y distribución del Mn en el sistema olfatorio, así como su llegada a otras áreas cerebrales, es importante. Tjälve y Henriksson (1999) reportan, tras la administración de Mn^{2+} en las cámaras olfatorias, la captura del metal por parte de los bulbos dendríticos de las células primarias por endocitosis, la acumulación del metal en los bulbos olfatorios, y el transporte a través de las vías olfatorias secundarias y terciarias. Los resultados de estos estudios indican que de estas áreas el Mn^{2+} continúa a lo largo de neuronas olfatorias terciarias en la comisura anterior y hacia áreas conectadas por esta vía, así como al hipotálamo, al tálamo, a la glándula pineal, al hipocampo y a la neocorteza dorsal hacia la fisura rhinalis. Tras intervalos de tiempo largos, el Mn^{2+} se distribuye a varias áreas grises de los hemisferios cerebrales, incluyendo los ganglios basales, así como la materia gris de varias partes de la corteza cerebral, y eventualmente al cerebelo y la médula espinal. Si bien el mecanismo de transporte del Mn dentro del SNC no es bien conocido (Tjälve y Henriksson, 1999), se propone la entrada a través de canales de Ca^{2+} durante el potencial de acción gracias a un mimetismo con este elemento, lo que explicaría su capacidad para distribuirse a diferentes áreas del cerebro (Sloot y Gramsbergen, 1994). Es esta capacidad de mimetismo y de transporte interneuronal la que se propone como el mecanismo principal de daño neurotóxico que el Mn produce. Los sitios de acumulación de gran cantidad de Mn podrían ser entonces los blancos de los efectos dañinos del metal.

Mecanismos de absorción

Los mecanismos de absorción del Mn en el organismo dependen directamente de la vía de exposición (Pramod y cols., 1999). En el caso de la vía oral la acción conjugada del intestino y del hígado regulan la absorción del Mn, aumentándola cuando existe deficiencia en la dieta, y disminuyéndola cuando los niveles son altos (Andersen y cols., 1999). Uno de los factores que intervienen en la absorción del Mn, en el caso de la vía oral, es la interacción que tiene el metal con el Fe. Cuando se tiene deficiencia de Fe^{2+} , como en el caso de la anemia, la absorción de Mn se ve aumentada (Mena y cols., 1969). Inicialmente se postuló que esta interacción se da a nivel del transporte del metal en el intestino (Johnson y cols., 1982), aunque la explicación con mayor evidencia (Davidsson y cols., 1989) considera que la interacción se da por medio de la transferrina (la principal enzima transportadora de Fe en el organismo) en el hígado. El exceso de Mn impide la regeneración de hemoglobina por absorción reducida de Fe. La absorción de Mn es reducida por la acción competitiva del calcio (Ca^{2+}) y el fósforo (P). Por su parte, las formas organometálicas del Mn se absorben más fácilmente que las formas inorgánicas (Davis, 1998, Levy, 2003).

En la velocidad de absorción puede influir el nivel de manganeso y hierro contenido en la dieta, el tipo de compuesto de manganeso, la edad y las deficiencias de hierro.

En el caso de la vía aérea la velocidad de absorción del Mn inhalado depende del tamaño de partícula en la que está contenido el metal. Tanto *in vivo* como *in vitro* se ha reportado que las partículas más pequeñas PM 2.5, producen mayor toxicidad, debido a que la solubilización de su contenido es más eficiente (Lison y cols., 1997).

Distribución

La distribución de Mn en el organismo se lleva a cabo por dos sistemas principales que transportan al Mn en dos estados de oxidación diferentes (Pramod y cols., 1999). En su forma Mn^{2+} el metal se une generalmente a las α -2-macroglobulinas de la circulación (Aschner, 1997), y en su estado Mn^{3+} es transportado por la transferrina. El Mn^{3+} unido a transferrina es el sistema más importante para la distribución de Mn a los tejidos desde la circulación (Gibbons y cols., 1976). La unión del Mn a la transferrina se lleva a cabo en el hígado, el cual parece jugar un papel importante en la biodisponibilidad y excreción del metal, ya que es en este órgano en donde se elimina la mayor parte del metal por la vía biliar, y es en las células hepáticas donde el Mn puede cambiar de estado de oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} para su distribución y en una reacción catalizada por la ceruloplasmina (Aschner, 1997; Davidsson y cols., 1989).

Se sugiere que la permanencia del Mn en el organismo está determinada de forma inversamente proporcional por la concentración de ferritina, lo que concuerda con el antagonismo fisiológico presentado entre el Mn y el Fe.

Concentraciones Tisulares

En la Tabla 3 se presentan las concentraciones tisulares en humanos reportadas para Mn en $\mu\text{g/g}$ de tejido (Underwood y cols., 1977).

Tabla 3. Concentraciones tisulares de Mn reportadas en condiciones normales

Tejido	Concentración ($\mu\text{g/g}$)
Hueso	3.3
Hígado	1.68
Riñón	0.93
Páncreas	1.21
Cerebro	0.34
Gónadas	0.19
Músculo	0.09

El hueso contiene alrededor del 45% del metal, y representa un tejido de acumulación mayor en comparación con otros tejidos, con una vida media de hasta 50 días después de la administración oral (Andersen, 1999).

Estudios realizados en primates no humanos, utilizando la vía inhalatoria han demostrado que el Mn que se absorbe en el SNC presenta una cinética de eliminación larga, y muy parecida a la que se presenta en el cerebro de los humanos con una $t_{1/2}$ de aproximadamente 54 días (Newland M., 1999).

Eliminación

El Mn absorbido se elimina rápidamente de la sangre y se distribuye principalmente en el hígado. La vía más importante de eliminación de Mn en el humano es la biliar (Ishihara y Matsushiro, 1986). Estudios realizados en ratas demuestran que el Mn puede alcanzar una concentración 370 veces mayor en la bilis que en el plasma (Gregus y Klaassen, 1986). La vía urinaria contribuye muy poco a la eliminación total de Mn; solo entre un 0.1 y 1.3% de la ingesta diaria se elimina por esta vía. La participación del hígado en la eliminación y distribución del Mn es evidente cuando se presentan alteraciones en dicho órgano (Hauser y cols., 1996), o cuando no participa, como en el caso de la alimentación parenteral (Alves y cols., 1997). La eliminación también es variable dependiendo de la vía de administración, de forma que la vía oral presenta una eliminación más rápida (10.5 ± 0.6 días) (Mena y cols., 1969).

En contraste con la evidencia acerca del mecanismo de entrada del Mn a través de la barrera hematoencefálica, se sabe muy poco acerca de la salida del metal del SNC. El mecanismo de salida del Mn no parece ocurrir a través de un transportador, y podría ser por difusión lenta (Crossgrove y Zheng, 2004).

2. Transporte y distribución del Mn al Sistema Nervioso Central

El Mn se acumula en los tejidos ricos en mitocondrias y atraviesa la barrera hematoencefálica y placentaria.

El cerebro es el órgano blanco de daño por la exposición a Mn. Sin embargo, también es un metal necesario para el buen funcionamiento cerebral (Takeda, 2003); por lo que su ingreso al SNC es importante desde el punto de vista toxicocinético y fisiológico. Dentro de los mecanismos de

entrada de Mn al tejido nervioso se mencionan tres de importancia fisiológica: la difusión facilitada, el transporte activo y el transporte mediado por transferrina (Aschner y Gannong, 1994). Algunas evidencias señalan a este sistema de transporte como el predominante en el SNC. Por ejemplo, la distribución de Mn en el cerebro corresponde con algunas de las zonas cerebrales con alto contenido de hierro tales como el pálido, los núcleos talámicos, y la sustancia nigra. Sin embargo existen otras regiones cerebrales como el caudado-putamen y el núcleo accumbens que presentan baja expresión de receptores a transferrina y altas concentraciones de Mn. En estos casos se ha observado que el Mn se acumula vía transporte axonal (Sloot y Gramsbergen, 1994).

Los capilares cerebrales expresan los receptores a transferrina, y presumiblemente la transferrina, conteniendo Mn o hierro, se une al receptor situado en la superficie, para posteriormente sufrir una internalización (Aschner y cols., 1999). Así encontramos al Mn todavía unido a la transferrina dentro de las células endoteliales. El complejo transferrina-Mn se acidifica en el endosoma, liberando al metal. La Apo-transferrina es liberada a la circulación general y el Mn no unido a transferrina, es susceptible de ser transportado a neuronas, oligodendrocitos, y astrocitos para uso propio y transporte extracelular.

Por otro lado, la administración intravenosa de sales de Mn pone de manifiesto que el Mn también puede ser transportado al líquido cefalorraquídeo a través de los plexos coroideos (Takeda y cols., 2003) y que ésta puede ser una vía de entrada al cerebro por un mecanismo diferente al que se presenta cuando el metal es ingerido por vía enteral, ya que en este caso el Mn no se encuentra unido a la transferrina. Más aún, al depositar el Mn directamente en el torrente sanguíneo se evita el efecto de primer paso del hígado y la posible depuración. En estas condiciones, el Mn se transporta aparentemente como un ión y el paso final al SNC se cree es realizado por sistemas de transporte

tales como el intercambiador sodio/calcio, el uniporter de calcio y el antiporter $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ (Takeda 2003).

Los estudios de distribución del Mn tras su administración exógena se han llevado a cabo en monos utilizando marcas radioactivas, como en el caso reportado por Dastur y cols., en 1971. En dicho estudio se administró Mn por vía intraperitoneal para sacrificar al animal posteriormente; de esta forma se encontró, 30 días después de la última administración de Mn, una mayor radio- actividad en los ganglios basales, cerebelo, tallo cerebral, sustancia blanca, médula espinal y nervios. A los 278 días después de la administración de Mn se encontró el siguiente orden de acuerdo a mayor radioactividad: cerebelo, *globos pallidus*, núcleo caudado, tálamo, tallo cerebral, sustancia gris, médula espinal y nervios. Estudios de distribución *in vivo* en monos utilizando técnicas de imagen no invasivas, tales como la resonancia magnética nuclear, han reportado que después de administrar Mn se presenta hiperintensidad en el estriado, *el globus pallidus* y la *sustancia nigra pars reticulata* (Newland y cols., 1999, Ericsson y cols., 2002). De éstas, el *globus pallidus* es la estructura que persiste en presentar la hiperintensidad 180 días después de la administración del metal. La utilización de otra técnica de imagen, la tomografía por emisión de positrones, ha demostrado que la región cerebral *globus pallidus* es la zona que presenta una mayor disfunción durante la intoxicación con Mn tanto en monos como en humanos (Shinotoh y cols., 1997). De esta forma, los estudios de distribución de Mn indican que este metal tiende a acumularse en los ganglios basales del cerebro, teniendo especial importancia el *globus pallidus* y el caudado. Ambas estructuras se encuentran relacionadas con el control y la integración de movimiento (Carperter, 1996).

Zonas cerebrales de afectación del Mn

Dentro de las células cerebrales que resultan de importancia en la intoxicación por Mn, se encuentran los astrocitos; se considera que el Mn en los astrocitos puede alcanzar valores intracelulares entre 80 y 100 μM y que estas células sirven no solo como una reserva del metal en el cerebro, sino también cumple con funciones de distribución a otras células (Wedler y cols., 1989, Montes y cols., 2003).

En estudios con técnicas de imagen como Resonancia Magnética (RM) se ha reportado que tras la administración de MnCl_2 , se presenta una hiperintensidad de la banda T1 en regiones como el neostriado, el globus pallidus y la sustancia negra (Ericksson y cols., 1992). Tanto en estudios con monos como con pacientes, se encuentra que el globus pallidus es la zona de mayor afectación por el metal (Calne, 1997).

En estudios postmortem realizados en cerebros de pacientes con encefalopatía hepática, se observan concentraciones elevadas de Mn en diferentes estructuras, como globus pallidus, núcleo caudado, putamen y en algunos casos sustancia negra. En pacientes alimentados parenteralmente durante largos períodos de tiempo también se observa aumento de los niveles de Mn en sangre y orina correlacionados con anomalías en el patrón de RM en el globus pallidus y aumento de las concentraciones de Mn, de tres veces, en el globus pallidus y aumentos más discretos en el putamen, el núcleo caudado, el lóbulo temporal y el lóbulo frontal (Alves y cols., 1997).

Patogénesis

Existe controversia acerca del mecanismo por el cual el Mn afecta al SNC (Pramod y cols., 1999). Por ser un metal de transición y existir en varios estados oxidativos, se ha mencionado que tiene la

capacidad de promover la formación de radicales libres a través de oxidación (Pramod y cols., 1999), especialmente como Mn^{3+} (Crossgrove y Zheng, 2004). De acuerdo con Hamai y Bondy (2004) los mecanismos neurotóxicos del Mn estarían basados en su potencial oxidativo y en la promoción de auto-oxidación de la dopamina. Esto basado en que las regiones mayormente afectadas por el Mn tienen como características un metabolismo oxidativo considerable, mayor contenido de dopamina y receptores de Fe. Además, los organelos en donde el Mn tiende a acumularse son las mitocondrias, especialmente vulnerables a la acción de radicales libres (Hamai y Bondy, 2004).

La producción de radicales libres por la acción de metales como el Mn puede agotar las capacidades antioxidantes de la célula y degenerar a las proteínas, los péptidos y las membranas, llevando a la muerte de la propia célula (Hamai y Bondy, 2004).

Sin embargo, la hipótesis de oxidación no puede explicar algunas propiedades tóxicas del Mn, como el hecho de que los síntomas nerviosos, especialmente la marcha, producidos por exposición al metal en forma crónica, progresen luego de que los niveles de Mn en los tejidos vuelven a la normalidad (Pramod y cols., 1999).

Neurotoxicidad del Mn en humanos

El estudio de los mecanismos de entrada, toxicidad y efectos sobre la conducta recobran importancia para la prevención y tratamiento de la exposición al metal, tanto en ambientes ocupacionales como no ocupacionales. El uso del compuesto de Mn como aditivo en las gasolinas para incrementar el octanaje, llamado Methylcyclopentadienyl Manganese Tricarbonyl (MMT) (Lynam y cols., 1999), y que es utilizado en países como EUA y Canadá, ha hecho que la

investigación acerca del daño del metal sobre el SNC adquiriera relevancia social.

La exposición ambiental a partículas suspendidas con alto contenido de Mn, como ocurre en fuentes ocupacionales, se ha relacionado directamente con la toxicidad producida en el ser humano (Cotzias y cols., 1968). Estudios realizados en primates, evaluando la vía inhalatoria, han demostrado que el Mn presenta una lenta absorción en el cerebro con una vida media de 10 días y un pico máximo a los 50 días de la inhalación continua; también se encontró que la cinética de eliminación es larga, con una vida media de 223-267 días. La proporción de Mn absorbida a partir de partículas respirables es de 30 a 50% en estudios con primates (Andersen y cols., 1999; Pramod y cols., 1999).

Es importante mencionar que esta eficacia de absorción es diez veces mayor que la presentada por la vía oral (Lynam y cols., 1999), por lo que resulta más importante como aporte para la sobreexposición de Mn en el humano.

La toxicidad de los distintos compuestos de manganeso parece depender del tipo de ion manganeso y de su estado de oxidación. Cuanto menos oxidado esté el compuesto, mayor será su toxicidad (ATSDR, 2000).

Un concepto importante para la evaluar la toxicidad es la distinción entre efectos agudos y crónicos. Los efectos agudos pueden manifestarse en cuestión de minutos, horas o días, mientras que los crónicos aparecen solamente semanas, meses o años posteriores al contacto con la sustancia tóxica (Extension Toxicology Network, 2002).

La toxicidad aguda es, por lo general, mas fácil de identificar y la evidencia científica obtenida de los estudios a corto plazo es más confiable.

La toxicidad crónica es mucho más difícil de evaluar ya que existen problemas inherentes a la toxicidad a largo plazo.

En general, en el caso de Mn los datos disponibles indican que la exposición a un exceso de manganeso durante 14 días o menos (aguda) o hasta un año (intermedia) tiene efectos en el sistema respiratorio y en el sistema nervioso, con un efecto escaso o nulo en otros órganos. La exposición aguda por inhalación a concentraciones elevadas de polvo de manganeso (en concreto de dióxido de manganeso [MnO₂] y de tetróxido de manganeso [Mn₃O₄]) puede provocar una respuesta inflamatoria en el pulmón.

La investigación acerca de los efectos neurotóxicos del Mn en contextos clínicos, así como la evaluación de riesgos en modelos epidemiológicos, han abarcado dimensiones neurológicas, afectivas y neuropsicológicas que buscan la integración de un cuadro definido sobre el daño producido por la exposición al metal en el ser humano.

Los primeros reportes de intoxicación por Mn datan del siglo XIX (Couper, 1837). En este estudio se describen los casos de cinco trabajadores expuestos a Mn quienes desarrollaron debilidad muscular, temblor de las extremidades, alteraciones de la postura al caminar, alteraciones del habla y salivación excesiva. Sin embargo, las descripciones más detalladas de los signos y síntomas de la intoxicación por Mn se realizaron a partir de estudios con trabajadores ocupacionalmente expuestos al metal, particularmente mineros (Mena, 1979).

Existe evidencia de que la exposición por inhalación a altos niveles de compuestos de Mn (generalmente MnO₂, y también compuestos con Mn²⁺ y Mn³⁺) pueden llevar a un síndrome discapacitante con manifestaciones neurológicas conocido como “manganismo”. El “manganismo” (intoxicación crónica), es una condición progresiva que por lo general comienza con síntomas que involucran labilidad afectiva, marcha alterada, temblor fino y algunos desórdenes psiquiátricos (“locura mangánica”). Algunos de estos síntomas físicos se observan también en la Enfermedad de Parkinson (EP), lo que ha llevado al término “parkinsonismo inducido por Mn”. Sin embargo, y a

pesar de las similitudes entre estos padecimientos, existen diferencias clínicamente significativas (Barbeau y cols., 1976; Calne, 1997). Barbeau y cols. (1984) reportaron que la hipocinesia y el temblor presente en pacientes que sufren “manganismo” difieren de aquellos con EP. Calne (1997) reporta otras características que distinguen al “manganismo” de la EP: en el primero se observan alteraciones psiquiátricas al inicio de la enfermedad (en algunos casos), marcha cock-walk¹, tendencia a caerse hacia atrás al ser enderezado, temblor de reposo en menor medida, mayor distonía y fracaso para responder a fármacos dopaminérgicos, al menos en las últimas fases de la enfermedad.

Los efectos clínicos característicos de la intoxicación por inhalación de Mn no se manifiestan hasta que dicha exposición se ha mantenido por muchos años; sin embargo, algunos individuos pueden presentar signos después de 1 ó 3 meses de exposición (Rodier, 1955). Los primeros signos de intoxicación suelen ser subjetivos; por lo general se reportan sensaciones de debilidad, pesadez, rigidez en las piernas, anorexia, dolor muscular, nerviosismo, irritabilidad y dolor de cabeza (Mena y cols., 1969; Nelson y cols., 1993; Rodier 1955; Tanaka y Lieben, 1969). Estos signos van acompañados de apatía, disfunción eréctil y pérdida de libido (Mena y cols., 1969; Nelson y cols., 1993; Rodier 1955). Los síntomas clínicos tempranos de la intoxicación incluyen habla lenta o pausada, sin entonación ni inflexión, facies sin expresión emocional, y movimientos lentos y torpes de las extremidades (Mena y cols., 1969; Nelson y cols., 1993; Rodier 1955; Schuler y cols., 1957). Las alteraciones de la marcha se hacen evidentes al progresar la enfermedad. Los músculos comienzan a presentar rigidez, y los movimientos voluntarios van acompañados de temblor (Mena y cols., 1969; Rodier 1955; Saric y cols., 1977). La reversibilidad de estos efectos es controversial,

⑨ ⑨①⑨ ⑨ ①⑤⑨ ④⑨⑨⑨⑨ ⑨⑤ ⑦①⑤①⑨⑨⑨ ⑨⑥⑤ ③⑥⑩ ⑨⑥⑨⑥⑩
 ⑨③⑨④①⑥⑤⑨⑨⑥⑩ ⑤ ③⑨ ⑨⑥③①④⑤⑨ ⑨⑨①⑨⑨

porque si bien existen investigaciones que reportan la eliminación de sintomatología tras el cese de la exposición (Smyth y cols., 1973), también hay evidencia, en estudios de cohorte, de irreversibilidad hasta 10 años después de terminar el contacto con el metal, mostrando incluso empeoramiento de los síntomas (Huang y cols., 1989).

El “manganismo” se ha documentado en mineros y trabajadores expuestos a niveles altos del metal, por inhalación de gases en minas y plantas de fundición, reportándose casos extremos de alteraciones psicomotoras, en el caso de mineros, y en menor medida en trabajadores de la industria (Chu y cols., 1996; Mena y cols., 1969; Nelson y cols., 1993).

El cuadro conductual temprano, conocido como “locura mangánica” (Mena 1979), incluye nerviosismo, irritabilidad, agresión y destructividad, así como actos compulsivos como risa y llanto incontrolables, e impulsividad (Rodier 1955; Schuler y cols., 1957). El paciente se muestra consciente de lo anormal de su conducta, pero es incapaz de controlarla.

Los reportes de “franco manganismo” (Rodier 1955; Schuler y cols., 1957; Smyth y cols., 1973), observado en mineros de plantas o minas manganesíferas, muestran que la instalación de la enfermedad es producida por una exposición crónica a niveles altos del metal. Los casos documentados indican que la vía de exposición más importante es la inhalación de polvos y gases que contengan Mn, mientras que otras vías, como la ingestión del metal por transporte mucociliar de partículas más grandes y actividades mano-boca, podrían contribuir de manera moderada. Al parecer, y con base en los datos obtenidos por Rodier (1955) y Schuler y cols. (1957), la frecuencia de casos de “manganismo” aumenta con una exposición prolongada, sugiriendo con ésto que la severidad de los síntomas manifiestos van en proporción a la exposición acumulada. Schuler y cols. (1957) demostraron que el número de pacientes con “manganismo” aumenta en relación con los años de exposición, con un promedio de 8 años antes de manifestarse la enfermedad. La duración

mínima de exposición previa a la manifestación de los síntomas fue de 9 meses y la máxima, de 16 años. De los 83 mineros seleccionados para examinar “manganismo” potencial, sólo 9 fueron identificados como auténticos casos de manganismo. En el estudio de Rodier (1955), al igual que en el de Schuler (1957), no se discute la duración de la exposición ni la sintomatología de aquellos trabajadores que no mostraban “franco manganismo”, por lo tanto, estos datos colectivos, si bien sugieren un efecto acumulativo de la neurotoxicidad del Mn, deben ser interpretados con cuidado.

Huang y cols. (1989), documentaron la evolución de la sintomatología de “manganismo” en trabajadores de una planta de aleación de hierro expuestos a Mn de manera crónica (de 3 a 13 años), que fueron evaluados entre 9 y 10 años luego de terminar la exposición. La valoración neurológica mostró alteraciones en la marcha, rigidez y escritura deficiente. Mostraban concentraciones altas de Mn en sangre, orina, cuero cabelludo y vello púbico; los resultados de Resonancia Magnética no revelaron áreas de intensidad alta. Estos datos proponen la permanencia de los efectos clínicos, en casos crónicos por exposición excesiva a Mn, aún cuando los niveles del metal en tejidos regresan a la normalidad. Así, se puede observar que la neurotoxicidad puede continuar en ausencia de exposición continua a Mn.

Actualmente, se reportan niveles de exposición por inhalación que pueden llevar a signos iniciales de toxicidad, en un rango de entre 0.027 y 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Chia y cols., 1993; Iregren 1990; Lucchini y cols., 1995; Mergler y cols., 1994; Roels y cols., 1997; Wennberg y cols., 1991). Se ha observado “franco manganismo” con niveles de exposición en un rango de 2 a 22 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Cook y cols., 1974; Rodier, 1955; Saric y cols., 1977; Schuler y cols., 1957).

Ninguno de los estudios publicados en ámbitos laborales muestra una curva de dosis-efecto, ni determinan la existencia de un índice en la manifestación de los efectos de la intoxicación. Sin

embargo, sí demuestran la importancia de ciertos indicadores neurológicos, que pueden tomarse como indicios de la sintomatología clínica del “manganismo” (Rodier 1955; Schuler y cols., 1957).

3. Efectos neuropsicológicos de la exposición al Mn

Existen indicadores subclínicos de efectos, como los identificados con funciones motoras, de memoria, de tiempo reacción, cognitivas, sensoriales y posturales, así como estados de ánimo. Existen procedimientos para evaluar las diferentes funciones relacionadas con la exposición a Mn, como por ejemplo: Para funciones neuromotoras existen pruebas basadas en programas de computación como la prueba “movemap”, la medición diadocinéscica o el euritmocinecímometro, las cuales se han utilizado para incrementar la sensibilidad (Gibbs, 1999; Mergler, 1999). Se han utilizado también pruebas neuromotoras no-computarizadas (Irengen, 1999) sensibles al manganismo subclínico que incluyen la prueba “pegboard”, la medición de la fuerza de agarre y las pruebas de melodía cinética de Luria-Nebraska, las cuales también han probado ser sensibles (Mergler, 1999). Otras funciones neuropsicológica relevantes para medir la neurotoxicidad del manganeso incluyen memoria, atención y aspectos visoespaciales.

La descripción del manganismo clásico indica alteraciones de comportamiento y estado de ánimo, incluyendo irritabilidad, afectividad, fatiga, somnolencia, reducción de la libido y comportamiento violento (Bowler, 1999); para evaluar este tipo de comportamiento se utilizan entrevistas y cuestionarios estructurados como el inventario de depresión de Beck.

Las alteraciones electrofisiológicas son efectos manifiestos de sobreexposición al manganeso. Los potenciales evocados (EP) son un método que registra la señal eléctrica correspondiente a un área

de la corteza cerebral como una respuesta a la presencia de un estímulo sensorial. El registro y análisis de los signos se ha utilizado para confirmar alteraciones neurológicas.

En la revisión realizada por Iregren (1999), de trabajos en donde se utilizan pruebas neuropsicológicas, este autor encontró que cinco de ocho estudios reportan la memoria como la función más afectada, teniendo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de expuestos y el grupo de los no expuestos cuando fueron medidos por la prueba “Span de Dígitos”, las pruebas de símbolos y dígitos, aritméticas, ó la batería “Weschler” de memoria.

Roels y cols. (1987) observaron efectos neurológicos tempranos (alteraciones en tiempo de reacción simple, capacidad de memoria a corto plazo verbal y temblor en manos) en trabajadores expuestos a $0.97 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de Mn (concentración media en polvo total). Iregren (1990) utilizó pruebas neuroconductuales (pruebas de tiempo de reacción simple, span de dígitos, finger tapping², y habilidad verbal y destreza en manos y dedos de la Swedish Performance Evaluation System, (SPES), y reportó en trabajadores expuestos puntuaciones por debajo de la media en pruebas como tiempo de reacción y finger tapping, al ser comparados con los controles no expuestos a Mn. En otro estudio realizado por Roels y cols., (1992) se muestran resultados similares, con alteraciones en el tiempo de reacción visual, coordinación visomotriz y “hand steadiness”³ en trabajadores de una fábrica de pilas alcalinas.

Los resultados de un estudio realizado por Mergler y cols. (1994) concuerdan con los de Iregren (1990) y Roels y cols. (1997). Esta investigación epidemiológica incluyó trabajadores varones de una fábrica de aleación de ferromanganeso y silicomanganeso que fueron pareados por edad y nivel educativo, con otros trabajadores de la región sin un historial de exposición. Los trabajadores

□ ☒ 0900 00 150 791000 00 000003000000 46069000
▣ ☒ 00 000003000000 00 4055000500 3000 4055600 05 150 76000
00*5 00100 769 15 70000606 06906 000047600

expuestos tenían niveles significativamente más altos de Mn en sangre, y mostraban una ejecución pobre en pruebas de función motriz al ser comparados con el grupo control. Usando la Batería Neuropsicológica de Luria-Nebraska, los autores reportan que los trabajadores expuestos tenían una ejecución más pobre que los controles en pruebas de funciones motrices, particularmente en aquellas que requerían movimientos alternados o rápidos en las manos, así como mantenerlas en una posición fija. Se reportaron diferencias significativas en la flexibilidad cognitiva y el estado afectivo, al igual que niveles más altos de tensión, fatiga y confusión, y niveles más bajos en el umbral de percepción olfatoria.

Tanto Mergler y cols. (1994), como Chia y cols. (1993) reportan puntuaciones bajas en numerosas pruebas de funcionamiento neuroconductual, incluyendo finger tapping y símbolos y dígitos, en los trabajadores expuestos al Mn. Los trabajadores mostraron también una tendencia a adquirir una postura ladeada al caminar con los ojos cerrados.

Lucchini y cols. (1995), evaluaron la ejecución de pruebas neuropsicológicas (tiempo de reacción, finger tapping, span de dígitos, sumas, dígitos en símbolos, comparación de figuras y vocabulario) en trabajadores que habían estado expuestos, por un lapso de un promedio de 3 años a concentraciones de MnO₂ en aire de 0.070–1.59 µg/m³. Al momento del estudio, los trabajadores expuestos se encontraban en un periodo de cese de la exposición. Se analizaron los niveles de Mn en sangre y orina, se calculó también un índice de exposición acumulada (IEA) y se encontraron correlaciones significativas entre la concentración de Mn en sangre y las pruebas de span de dígitos, “finger tapping” y símbolos y dígitos; igualmente entre el valor de Mn en orina y la ejecución de pruebas de adición; y entre el valor de IEA y la puntuación de símbolos en dígitos. Se observó una correlación significativa entre el IEA y los niveles de Mn en orina y sangre. Estos resultados son los

primeros en sugerir que las concentraciones de Mn en orina y en sangre pueden ser marcadores de exposición asociados con el efecto neurotóxico del metal.

Crump y Rosseau (1999) llevaron a cabo un estudio longitudinal (11 años), con varones expuestos ocupacionalmente a Mn. Se tomaron muestras de sangre y orina, y se aplicaron pruebas neuropsicológicas (memoria a corto plazo, y coordinación viso-manual). Los niveles de Mn en sangre y orina permanecieron relativamente constantes durante el período del estudio, y eran semejantes a los reportados por otras investigaciones. Los autores sugieren que la consistencia de estos datos en relación con los niveles de Mn indica que las concentraciones de Mn en el aire a las cuales los sujetos fueron expuestos durante el período del estudio eran semejantes a aquellos reportados por Roels y cols. (1997). Los autores encontraron una disminución en los errores en las pruebas de memoria a corto plazo (número de palabras repetidas y número de errores). Se observó que los trabajadores de mayor edad realizaban ejecuciones significativamente más pobres que los trabajadores jóvenes en el total de palabras evocadas en las pruebas de memoria y en los porcentajes de precisión y de confiabilidad en la prueba de coordinación viso-manual. Además, los niveles de Mn en sangre y orina no se asociaron de manera significativa con la ejecución en las pruebas de memoria y coordinación viso-manual.

La mayoría de las investigaciones realizadas hasta el momento en cuanto a neurotoxicidad por exposición a Mn se han llevado a cabo en poblaciones ocupacionalmente expuestas, no así con las poblaciones ambientalmente expuestas. Las concentraciones de exposición ocupacional son generalmente mayores a las ambientales, pero son intermitentes, mientras que la exposición ambiental es más continua, comparada con la ocupacional, cubre las 24 horas del día e implica más subgrupos sensibles, tales como los niños, los adultos mayores, los sujetos con enfermedades

hepáticas y en condición anémica (Hudnell, 1999). Existen pocos reportes de exposición ambiental a fuentes de Mn que no sean de industrias que lo emiten.

El trabajo de Mergler y cols. (1999) fue el primero en estudiar una población ambientalmente expuesta y describir los posibles efectos de la exposición a Mn sobre el estado de ánimo, utilizando el Inventario de Síntomas Breves que proporciona un perfil de diagnóstico clínico del estado de ánimo (obsesión, depresión, ansiedad, fobia y hostilidad); las funciones neuromotoras y los niveles del metal en fluidos biológicos, utilizando una batería de pruebas de funcionamiento neuromotor, las pruebas de función visual del Neurobehavioral Evaluation System-2, una batería de pruebas neuropsicológicas y otras pruebas que cubrían áreas como umbral olfatorio, el finger tapping, el span de dígitos y la inclinación postural. Se tomaron muestras de sangre para obtener las concentraciones de Mn, Fe y Pb.

Las concentraciones de Mn en las muestras de sangre fueron significativamente más altas en las mujeres (7.5 µg/l) que en varones (6.75 µg/l). No se encontró relación entre las concentraciones totales de Mn en sangre y la de Pb o Fe séricos. Sin embargo, los niveles de Mn en sangre se correlacionaron negativamente con el Fe sérico en las mujeres, teniendo además una tendencia a disminuir con la edad. Los autores analizaron las concentraciones de Mn en el agua potable en las casas de los sujetos, así como muestras de aire de cuatro diferentes localidades para las partículas de Mn y los valores de PM₁₀. La media geométrica de Mn en sangre fue de 4.11 µg/l, y no hubo correlación entre las concentraciones individuales del metal en agua y los niveles de Mn en sangre. Se utilizaron las escalas de auto-reporte del Perfil e inventario breve de estado de ánimo para explorar el estado emocional de la población estudiada. Los resultados de este análisis indicaron que los hombres mayores (>50 años) y con niveles de Mn en sangre más altos (≥ 7.5 µg/l), mostraban alteraciones significativas en numerosos síntomas del estado de ánimo, como ansiedad,

nerviosismo e irritabilidad, alteraciones emocionales, agresión y hostilidad, al ser comparados con aquellos con niveles bajos de Mn en sangre. Al analizarse los resultados de las pruebas que evalúan funciones motoras y cognitivas, se observó que los varones de mayor edad con niveles altos de Mn en sangre (≥ 7.5 $\mu\text{g/L}$) mostraban ejecuciones más pobres en las pruebas de movimiento de las extremidades superiores (Mergler y cols., 1999). En ellos también se encontró lentitud significativa en los movimientos proximales y distales de los brazos. No se observó una correlación en el caso de las mujeres. Otras medidas, como la ejecución motora, no se relacionaron con los niveles de Mn en sangre, si bien se observó una disminución significativa en la dispersión de la frecuencia de temblor en relación con la concentración de Mn en sangre. Para ambos géneros la ejecución de las tareas de aprendizaje y memoria se correlacionaron inversamente con los valores de Mn en sangre.

En el caso de los hombres, los niveles más altos de Mn en sangre se asociaron con las ejecuciones más pobres en el aprendizaje de listas de palabras, la evocación auditiva a largo plazo y el reconocimiento de figuras tras un distractor. Las mujeres, en contraste, tendían a evocar menos figuras geométricas y cometían más errores en una prueba de reproducción de dibujos, aunque recordaban más números en la prueba de span de dígitos directos. En este estudio también se reportó que los efectos cognitivos y motores asociados con niveles altos de Mn en sangre se encontraban con mayor frecuencia en personas mayores de 50 años de edad. En contraste, Roels y cols., (1997) reportaron que la edad era un factor importante sólo en la ejecución de la prueba de tiempo de reacción visual, pero no en la de coordinación viso-motriz, ni en “hand steadiness” aplicadas en sus estudios.

Sassine y cols. (2002) llevaron a cabo un proyecto de investigación con el fin de describir los efectos neurotóxicos iniciales por exposición a Mn en un grupo de trabajadores y estudiar la relación entre niveles de Mn en sangre, consumo de alcohol y salud mental, y sugieren que los

niveles altos de Mn en sangre incrementan la sintomatología psiquiátrica asociada con el consumo de alcohol.

En el estudio piloto llevado a cabo por Santos-Burgoa y cols. (2001) con población mexicana, en dos comunidades de la zona manganesífera del estado de Hidalgo, en donde se estudiaron 73 adultos ambientalmente expuestos a Mn, se encontró que las concentraciones de Mn en aire fueron de 2 a 3 veces más altas que en áreas urbanas. Los niveles de Mn en sangre estuvieron dentro de un rango de 7.5 µg/L a 88 µg/L, con una media de 15 µg/L. Utilizando análisis de regresión logística multivariado, se determinó que el incremento de Mn en sangre incrementa el riesgo de una ejecución pobre en una prueba de rastreo que evalúa funciones cognitivas (MMSE).

4. Características del ecosistema

En el distrito minero de Molango, ubicado en el Estado de Hidalgo, existen importantes yacimientos manganesíferos cuya prospección, extracción y beneficio inició en 1960. Éste es el segundo yacimiento más importante en Latinoamérica y el quinto en importancia a nivel mundial. □

El distrito de Molango tiene una extensión de 50 km de norte a sur y 25 km de este a oeste y un área de 180 Km²; está poblado por 127,401 habitantes (INEGI, 2000). Se localiza en la Sierra Madre Oriental, en un área montañosa que cubre un rango de altitud entre 600 y 2600 metros sobre el nivel del mar. Ésta es una región con barreras naturales (ejem. elevadas montañas). En algunos casos, las casas, a pesar de estar cerca de las plantas, se encuentran protegidas por estas barreras naturales. La vegetación natural se compone de bosques de pino y roble en las elevaciones más altas y bosques de niebla de montaña en las laderas más pronunciadas que terminan en bosques de lluvia tropical en elevaciones más bajas. El uso de suelo es principalmente de siembra en tiempos

de lluvia y extensas tierras de pastoreo. Han ocurrido cambios importantes en el uso de suelo durante las tres últimas décadas, por los cuales el 18% del área de bosques naturales se ha convertido en tierra de pastoreo y agricultura (Cruz-Ramírez y Olvera-Vargas, 2004).

El depósito minero de Mn es un área bien definida de la formación “Chipoco” Jurásica. Se formó en un ambiente marino profundo que se unió y se levantó durante la Orogenia Laramide. Consiste de piedras calizas enriquecidas con materia orgánica, las cuales se alternan con rocas calcáreas impregnadas con calcopirita y minerales de Mn. Los minerales de Mn que predominan son la rodocrosita (carbonato de Mn), en las capas más profundas de los depósitos y la pirolusita (dióxido de Mn), en las capas superiores (Alexandri y Martinez, 1988). La rodocrosita se extrae de minas en la parte norte y central del distrito y se procesa en nódulos de monóxido de Mn en la planta procesadora de Otongo. La pirolusita se extrae en Malila y Nonoalco, concentrada gravimétricamente y vendida a los productores de baterías y concentrados para alimento animal.

En sus inicios la explotación mineral en la zona generó una expectativa de desarrollo regional en los habitantes de la zona para convertirse después en una preocupación por los posibles efectos de sustancias contaminantes presentes en el ambiente, provenientes de las plantas de transformación y de las minas especialmente en las comunidades mas cercanas a ellas.

II. JUSTIFICACION

El Instituto de Salud, Ambiente y Trabajo realizó un estudio piloto (1997-1998) (Santos-Burgoa y cols., 2001) con el objetivo de evaluar si las emisiones de polvos ricos en manganeso tenían un impacto negativo en la salud de los pobladores de la comunidad de Chinconcuac. Este estudio contempló la evaluación de sintomatología respiratoria y exámenes neuropsicológicos de 73 adultos, residentes de esta comunidad. También incluyó el análisis de manganeso en partículas atmosféricas, agua y alimentos. Los datos obtenidos en la zona se compararon con datos obtenidos de una comunidad alejada de la zona minera. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en los contenidos de Mn entre los pobladores de ambas comunidades. Se encontraron niveles altos de concentraciones de Mn en sangre (7.5-88 $\mu\text{g/L}$); las concentraciones ambientales en aire en Chinconcuac fueron de dos a tres veces mayores que las reportadas en la zona control. Se observó un menor desempeño del estado cognitivo general, utilizando la prueba Mini-Mental State Examination (MMSE), en los individuos evaluados en la zona minera, lo que se atribuyó a una mayor exposición a manganeso, principalmente por vía respiratoria.

Los tomadores de decisiones y otros actores sociales involucrados, de acuerdo con las recomendaciones emanadas de este estudio piloto, consideraron que era necesario realizar un estudio más amplio en donde se considerara un mayor número de comunidades y se tuvieran en cuenta todos los factores posibles atribuibles a la exposición. De esta forma surge el presente trabajo teniendo en cuenta las inquietudes comunitarias y de las autoridades de salud con el fin de conocer con objetividad los efectos a la salud por exposición a Mn.

III. HIPÓTESIS

Concentraciones altas de Mn en sangre y/o aire constituyen un factor de riesgo para presentar un deterioro en la ejecución neuropsicológicas en sujetos adultos expuestos no ocupacionalmente.

IV. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Estimar el riesgo de alteraciones neuropsicológicas, motoras y cognitivas, relacionadas con la exposición a manganeso en sujetos adultos expuestos no ocupacionalmente al metal en el distrito manganesífero de Hidalgo, México.

2. Objetivos particulares

Identificar rutas y variables de exposición a manganeso que son más efectivas en población adulta expuesta no ocupacionalmente.

Determinar el comportamiento de variables de exposición a manganeso, de acuerdo a las condiciones ambientales y patrones de edad, género y actividad de la población.

V. MATERIAL Y METODOS

1. Población estudiada

Este estudio se llevó a cabo en 8 comunidades del distrito minero de Molango, en el año 2002.

El marco muestral se definió con base al estudio de microcuencas, considerando como relevante el estudio en Otongo y Nonoalco e incluyendo comunidades tanto cercanas a las plantas de procesamiento como alejadas de ellas. Los criterios de selección incluyeron: exposición a Mn cerca de sitios de extracción, de lugares donde se realizan actividades de procesamiento (Chinconcuac y Tolago en el norte, y Malila y Nonoalco en el sur) o contacto con yacimientos naturales manganesíferos (Tlaltepingo y Huitznopala). Dos de las comunidades se localizan en áreas sin fuentes manganesíferas naturales o antropogénicas conocidas (Cuxhuacán al norte y Santa Mónica al sur). Esta selección se hizo con el fin de tener grupos de comparación:

Lugares con yacimiento más explotación, cercanas a las plantas de procesamiento.

Lugares con yacimientos, sin explotación, distantes de la plantas de procesamiento

Lugares sin yacimientos, sin explotación, en la misma región.

El diseño del muestreo fue probabilístico multietápico, por conglomerados, cada comunidad fue dividida en cuatro cuadrantes sobre un croquis de la comunidad; bloques dentro de la cuadrícula fueron enumerados y muestreados en forma aleatoria. Se visitó de 3 a 8 casas por cada cuadrante, se preguntó por los miembros de la familia y estos seleccionados en forma aleatoria fueron invitados a participar.

Criterios de Inclusión

Ser residentes de alguna de las 8 comunidades seleccionada para el estudio

Tener residencia de cuando menos de un año en la zona

Hombre o mujer dentro de un rango de 20 a 75 años

Criterios de Exclusión

Ser minero o haber estado expuesto ocupacionalmente al manganeso.

Tener historia de alcoholismo

Tener diagnóstico de cirrosis hepática

Presentar algún desorden neurológico o psiquiátrico.

No firmar el consentimiento informado

Tamaño de la muestra

Para determinar el tamaño de la muestra se utilizó el enfoque de Breslow y Day (1987), incluyendo la corrección de Yates, y una prueba de una cola alfa más restrictiva de 2.5% y un poder de 80%, una muestra de 300 personas darán información para identificar razones de riesgos entre 1.3 a 1.8.

La muestra quedó finalmente compuesta por 288 personas. La tabla 4, muestra la distribución de la población por comunidad.

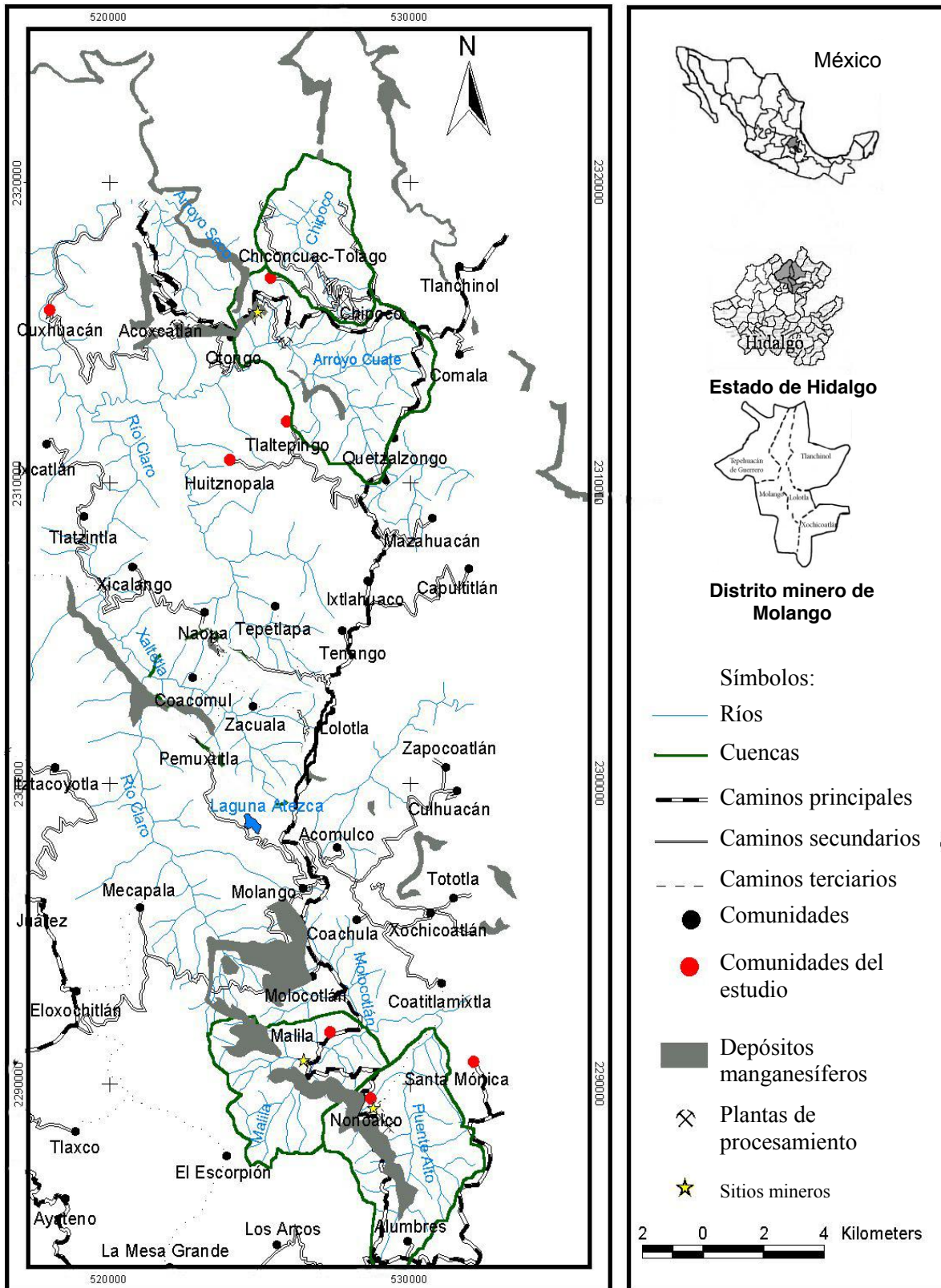
Tabla 4. Distribución de la muestra poblacional incluida en el estudio por comunidad

Comunidad	Número de personas	Porcentaje respecto al total
Cuxhuacán	28	10 %
Tlaltepingo	20	7 %
Chiconcuac	38	14 %
Tolago	37	12 %
Huitznopala	25	9 %
Santa Mónica	56	19 %
Nonoalco	52	18 %
Malila	32	11 %
Total	288	100

Ubicación geográfica de las localidades

La figura 2. Muestra la localización de las comunidades que fueron estudiadas, los afloramientos de Mn y las ubicaciones de las plantas procesadoras. La parte norte del área (Otongo, Chiconcuac, Tolago) tiene un clima cálido y húmedo durante todo el año. La temperatura media anual varía entre los 20 y 24° C y la precipitación anual acumulada oscila entre los 2000 y 3000 mm. La parte sur (Nonoalco y Malila) del distrito es menos húmeda; tiene un clima templado húmedo con lluvias en verano. La media anual de temperatura es de 16 a 20° C, y la media anual de precipitación varía de 1200 a 1500 mm (García, 1975; 1990).

Figura 2. Distrito minero, localización de las comunidades que fueron estudiadas, los afloramientos de Mn y las ubicaciones de las plantas procesadoras



En la tabla 5 se observa la distancia de las comunidades a las plantas de procesamiento. Las comunidades más cercanas a las plantas procesadoras de Mn son: Nonoalco, Malila, Chinconcuac y Tolago y la más alejada Santa Mónica.

Tabla 5. Distancia de las comunidades a las plantas de procesamiento

Comunidad	Distancia (km)
Nonoalco	<1
Malila	1-2
Chinconcuac	1.3
Tolago	1.8
Tlaltepingo	4.5
Huitznopala	5.7
Cuxhuacán	7.4
Sta. Mónica	10.5

2. Instrumentos de Medición

El primer paso que seguimos en campo para realizar el estudio fue sostener reuniones en las comunidades en asamblea general. El propósito de estas reuniones fue dar a conocer el proyecto, sus objetivos, actividades y el personal involucrado. En estas asambleas se resolvieron dudas y se establecieron compromisos del equipo de investigación especialmente en lo referente al manejo de la información y de los resultados, estableciéndose que durante el proceso y al final del estudio se darían a conocer los resultados a los habitantes de las comunidades de forma individual y en asambleas dependiendo del tipo de información.

Consentimiento informado

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado, para cada uno de los procedimientos (toma de muestra de sangre y evaluación neuropsicológica), previamente aprobados por el comité de ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. A cada uno de los participantes se les explicó el objetivo de la investigación, y se aseguró la confidencialidad de los datos obtenidos.

Cuestionario de condiciones socio-económicas

Cubrió los siguientes aspectos: Datos sociodemográficos, condiciones de vivienda, historia médica, historia laboral, historia de exposición a sustancias neurotóxicas, consumo de fármacos, alcohol diario y tabaquismo (consumo de más de 10 cigarros diarios).

Pruebas neuropsicológicas

Para este estudio decidimos evaluar funciones motoras, cognitivas (memoria, aprendizaje, atención, aspectos visoespaciales y visoperceptuales) y depresión.

Las técnicas e instrumentos para estudiar los efectos neuroconductuales generalmente han sido desarrollados en los países industrializados. Una excepción es Cuba, donde se ha desarrollado una experiencia importante durante los últimos 10 años, que han resultado en el Diagnóstico Neuropsicológico Automatizado (DIANA) (Mayor, 1998). Sin embargo, igual que el Neurobehavioral Evaluation System, son pruebas computarizadas y que requieren que la persona examinada no tengan un nivel de escolaridad bajo. Estas dos características han limitado su

aplicación en poblaciones de América Latina. A raíz de esto se publica en el año 2000 el manual de pruebas neuroconductuales que comprende pruebas que evalúan las áreas definidas en las directrices para la estimación de riesgos neurotóxicos de la “Agencia de Protección Ambiental (Environmental Protection Agency, United States of America, 1998). En este manual se hizo una selección de pruebas que tienen una sensibilidad y especificidad aceptable, y que son fáciles de aplicar y económicas (Wendel del Joode, 2000).

La selección de pruebas para la batería neuropsicológica utilizada en este estudio estuvo en función de dicho manual y de su utilización en investigaciones publicadas anteriormente en las que se muestra su utilidad para explorar las funciones cognitivas y motoras en casos de daño neurológico por exposición con Mn. Algunas de estas investigaciones incluyen a Mergler y cols. (1994, 1999) y Santos-Burgoa y cols. (2001).

Pruebas Motoras

Para la valoración de funciones motoras se utilizó la batería de diagnóstico neuropsicológico de Ardila-Ostrosky-Canseco (1981), que es una adaptación y desarrollo de los procedimientos diagnósticos utilizados por A.R Luria, (Luria Nebraska), el cual fue traducido al español y validado en población mexicana (Ostrosky y cols, 1989). Esta valoración neuropsicológica cuenta con un apartado de 17 tareas para valorar funciones motoras.

- 1) Fuerza motriz, en donde se obtienen dos calificaciones (magnitud de la fuerza de la mano derecha y magnitud de la fuerza de la mano izquierda).
- 2) Tocar sucesivamente los dedos de la mano, en esta tarea se obtienen 4 calificaciones (velocidad de la mano derecha, velocidad de la mano izquierda,

precisión con la que realiza la tarea con la mano derecha y precisión con la mano izquierda).

- 3) Reproducir por modelo posiciones de la mano, se califica ejecución y espejo con la mano derecha y con la mano izquierda, además de perseveración, obteniendo así 5 puntuaciones.
- 4) Coordinación de las manos en el espacio, se califica ejecución en espejo y perseverancia.
- 5) Movimientos alternos de las dos manos, se evalúa coordinación en cada mano.
- 6) Coordinación de dos movimientos, se obtienen 4 calificaciones: fluidez y ejecución tanto para la mano derecha como para la mano izquierda.
- 7) Ritmos asimétricos, se califica ejecución y simetría
- 8) Cambios de posición de la mano, se obtienen puntuaciones para ejecución, perseveración de movimiento, coordinación espacial, perseveración de secuencia, tanto para la mano derecha como para la izquierda.
- 9) Dibujos secuenciales; se evalúa fluidez, continuidad secuencial, perseveración secuencial, perseveración en movimientos.
- 10) Movimiento de la lengua, valora ejecución y simetría del movimiento.
- 11) Secuencia de tres movimientos.
- 12) Silbar.
- 13) Acciones simbólicas.
- 14) Reacción de elección.
- 15) Reacciones conflictivas.
- 16) Reacciones opuestas.

17) Seguir un objeto.

En estas sub-pruebas se califican varios criterios de la ejecución de la tarea, esto permite efectuar una cuantificación sencilla, teniendo en cuenta 3 categorías generales.

- 0 equivale a ejecución normal.
- 1 ejecución regular (afección moderada).
- 2 ejecución imposible (compromiso severo).

De esta manera se obtienen 41 puntuaciones o variables de la prueba motora en total, lo cual indica que a mayor puntaje mayor deterioro motor.

Pruebas cognitivas

La tabla 6 resume cada prueba cognitiva y de depresión que utilizamos respecto a la función que explora, sus autores referentes y sus puntajes.

Tabla 6. Pruebas cognitivas seleccionadas para el estudio

Función cognitiva	Prueba	Referencia	Escala de Puntuaciones
Esquema cognitivo general	Escala Mini-Mental State Examination (MMSE)	Folstein y Folstein, 1975 Reyes, 2004	0-30
Memoria verbal	Test de Lista de Palabras	Knopman y Ryberg, 1989 Peña-Casanova, 1991	0-10
Atención	Test de Retención (span) de Dígitos	Wechsler, 1981	0-18
Fluidez verbal y semántica fonológica	Test de Asociación de Palabras	Ostrosky y cols, 1999 Benton y cols., 1983, Peña-Casanova, 1991	Puntaje de acuerdo a la cantidad de palabras evocadas en un minuto.
Organización perceptual y memoria visual	Test de Figura Semicompleja de Rey-Osterreith	Ostrosky y cols, 1999	0-12
Visoconstrucción	Test del Reloj	Lezak, 2004	0-3
Depresión	Inventario de Depresión de Beck	Beck y cols., 1961	0-9 Rango normal 10-16 Depresión leve 17-29 Moderada >30 Severa
	Inventario de Depresión Geriátrica (IDG)	Yesavage, 1986	1-10 Rango normal 11-16 Depresión moderada >17 Severa

La evaluación neuropsicológicas de cada participante fue de una hora aproximadamente y se llevó a cabo en la escuela de cada comunidad. Con el fin de evitar efectos por cansancio las pruebas se realizaron en dos sesiones de media hora, con un período de descanso, y en las horas de la mañana. Ningún participante reportó aburrimiento o cansancio durante la valoración y siempre se observaron cooperativos para responder.

3. Marcadores de exposición ambiental

Con el fin de valorar las diferencias en la exposición a Mn entre las ocho comunidades seleccionadas, se realizaron pruebas en las fuentes de agua potable, en el suelo de campos agrícolas seleccionados y en hojas de sus principales cosechas (maíz y pasto). En cada comunidad se tomaron muestras en el tanque de almacenamiento del agua potable, así como los manantiales naturales existentes. Se analizó un total de 102 muestras de agua. Asimismo, se tomaron muestras de los suelos en superficie (0-20cm de profundidad) con hojas de maíz o pasto producidas en ellos. Se seleccionaron de tres a diez campos al azar por comunidad, y en cada campo se tomaron doce muestras de la parte central del suelo y doce muestras de hojas. Se reunieron un total de 47 muestras de suelo, 30 muestras de pasto y 17 muestras de hojas de maíz. Adicionalmente, se colectaron muestras de granos de maíz de cuatro hogares, que pertenecían a personas de las comunidades más expuestas (Chinconcuac y Tolago).

Las concentraciones de Mn en agua, suelo y cosechas son atribuibles a cada comunidad, pero no a sujetos en particular que hayan participado en el estudio.

Las muestras de agua fueron filtradas automáticamente a través de filtros de membrana Millipore de 0.045 micrómetros en tubos al vacío (vacutainers) y almacenadas a 4°C hasta su análisis. Las muestras de suelo fueron secadas al aire, tamizadas (<2 mm) y extraídas con DTPA, de acuerdo con Lindsay y Norvell (1978). El Mn se determinó con un espectrómetro de absorción atómica PERKIN ELMER 3110 en una flama de aire/acetileno.

Las muestras de hojas fueron lavadas inmediatamente después de tomarlas, secadas a 65°C, molidas (<0.1 mm) y presionadas en tabletas agregando C-wax (relación 10:1 wt/wt). El Mn se determinó por fluorescencia de rayos X (Siemens SRS 3000). La curva de calibración se construyó

a partir de cinco materiales internacionales certificados de referencia de muestras de plantas, que fueron preparados de la misma forma que las muestras. Las muestras de granos de maíz fueron digeridas en un horno de microondas con ácido nítrico concentrado y se detectó Mn por medio de espectroscopía de absorción atómica (Siebe y cols., 1996).

4. Muestras de aire

Este monitoreo tuvo la finalidad de medir la concentración de partículas menores a 10 micras (PM^{10}), igual que en el estudio piloto y la especiación de las mismas. Se utilizaron monitores SKC programables con un cabezal para la instalación del filtro por cada vivienda, colocado al exterior de la misma. El tiempo total de monitoreo fue de 4 días, en los dos primeros días se utilizaron filtros de teflón y en los dos restantes se usaron filtros de policarbonato.

Se tomaron muestras extramuros en 28 casas representativas de las ocho comunidades seleccionadas, no en forma simultánea, pero sí en la misma temporada o época del año. Los monitoreos se llevaron a cabo entre abril y junio de 2002.

Los monitores fueron colocados en sitios seguros, lejos de corrientes directas de aire, en la azotea de la vivienda en un lugar bien ventilado y protegido de las posibles lluvias o sol intenso.

Equipos de muestreo

Para el monitoreo se utilizaron bombas universales SKC modelo 224-PCXR8 conectadas a un monitor ambiental personal (PEM por sus siglas en inglés) modelo 200 de MSP Corp.



Figura 3. Bomba universal conectada con el monitor ambiental personal

Los contenidos de Mn en los filtros se midieron utilizando PIXE (Emisión de rayos X inducida por partículas), con un rayo de protón de 2.2 MeV producido por el acelerador Pelletron 9SDH-2 (National Electrostatics Corporation, Middleton, WI, EUA) en el Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México. La cámara de irradiación es descrita en un trabajo publicado por Miranda y cols., 2000. Se utilizó un detector de germanio hiperpuro, tipo LEGe (Canberra Industries, Meridien, CT, EUA), con una resolución utilizada de 150 eV a 5.9 keV, conectado a un amplificador Canberra 2026. Un aditamento analizador multicanal de Oxford Instruments PCA3 (Oxford Industries-Tennelec, Oak Ridge, TN, EUA), unido a una computadora personal reunió el espectro de rayos X. Estos fueron analizados por medio del Sistema de Análisis de rayos X Cuantitativo (QXAS) código de cómputo (IAEA, 1995). La respuesta del sistema de detección se midió utilizando estándares finos de película MicroMatter (Deer Harbor, WA, EUA). Se llevó a cabo una determinación de la exactitud para los análisis de PIXE utilizando un juego diferente de estándares MicroMatter, dando como resultado un error no mayor a 0.70%.

El uso de PIXE para análisis básicos tiene varias ventajas. Primero, con esta técnica no es necesario preconcentrar la muestra, como es el caso de métodos como la Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS), Plasma Acoplado por Inducción, Espectrometría de Emisión Atómica (ICP-AES) o Espectrometría de Masas (ICP-MS). Segundo, los límites de detección mínimos para Mn son ligeramente más altos que los proporcionados por las variantes de AAS o ICP-AES (Landsberger y Creatchman, 1999), principalmente los de orden 1 ng/m^3 del elemento en aire. Tercero, PIXE es una técnica rápida, no destructiva y multielemental, de manera que futuros métodos analíticos pueden ser aplicados a la misma muestra. PIXE es altamente recomendado para este tipo de estudios (IAEA, 1995).

Ha habido un gran número de comparaciones hechas colectivamente entre PIXE y otros métodos analíticos (tales como análisis de activación de neutrones, ICP-MS o cromatografía de iones), con resultados favorables (Cohen, 1999; Spurny, 1999).

5. Análisis de Manganeso en Sangre

Se tomaron muestras de sangre para determinar las concentraciones de Mn y Plomo (Pb) y hemoglobina. Se tomó un volumen de 5 ml de sangre venosa en el antebrazo. Las muestras fueron mantenidas en refrigeración durante el viaje y hasta el día del ensayo.

Las muestras para el análisis de Mn en sangre se colectaron en tubos al vacío (Vacutainer) de 2.5 cc de capacidad y EDTA K3 como anticoagulante. Tanto el Pb como el Mn en sangre fueron analizados con un espectrómetro de absorción atómica con horno de grafito (GFAAS), de acuerdo con las técnicas reportadas por Miller y cols., (1987) y Pleban y Pearson (1979). Se utilizó un

espectrómetro de absorción atómica Perkin-Elmer 3110, con horno de grafito HGA-600 y un automuestreador AS-60 (NBS-3128, NBS Gaithesburg, MD). Las curvas de calibración fueron construidas con solución estándar Merck Tritrisol. El control de calidad de los análisis de Pb se llevó a cabo con la participación del Programa de Eficacia Higiénica en el Laboratorio de Pb del Estado de Wisconsin.

El control de calidad del análisis de Mn fue evaluado al medir un material biológico de referencia (hígado bovino del National Institute of Standards and Technology, Gaithesburg, MD). Se preparó un par de estándares externos mediante la digestión de este material a concentraciones diferentes de Mn: 2.5 y 10 ppb. Las concentraciones de Mn de estándares externos fueron medidas junto con los análisis de las muestras de sangre. Se empleó un intervalo de confianza de 95% para la media de Mn en el material de referencia con el fin de determinar si las muestras de sangre estaban dentro de los límites de control de calidad.

VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se construyeron varias bases de datos para incluir: variables socio-demográficas, variables de exposición y variables respuesta. Posteriormente utilizamos un campo llave (folio) para generar una sola base de datos relacional. La captura de datos y el armado de una sola base de datos fueron revisada, por dos investigadores sujeto por sujeto.

Realizamos el análisis exploratorio de datos obteniendo frecuencias simples para todas las variables y medidas de tendencia central y dispersión para las variables continuas. Obtuvimos gráficos de las variables respuesta de interés para determinar el mejor método para obtener modelos explicativos.

Obtuvimos resultados de las concentraciones de las muestras de sangre, de aire, de suelo, así como de las pruebas cognitivas y motoras por comunidad y por otras vías de interés como sexo y edad.

Se obtuvieron los datos descriptivos (medias, medianas, mínimos, máximos y frecuencias) de las variables sociodemográficas, así como para las variables de exposición. Se compararon las concentraciones (datos transformados) de Mn y Pb en sangre entre las comunidades, utilizando la prueba t-student.

Para cada una de las pruebas motrices se agrupó a la población estudiada en dos categorías: los que presentaron pruebas normales y los que presentaron algún tipo de daño (moderado o severo).

De esta manera analizamos la asociación entre cada una de las pruebas motoras y los niveles de exposición utilizando el método de regresión logística.

Realizamos un análisis bivariado buscando la asociación de una ejecución pobre en las pruebas motoras con diferentes factores: plomo y Mn en sangre, sexo, edad, estatus socio-económico, alcoholismo y escolaridad. Cuando la asociación presentó un valor significativo $P < 0.01$, fue

incluido en un modelo de regresión múltiple. Estos modelos fueron aplicados usando pruebas de máxima veracidad.

Se utilizaron diferentes enfoques para estudiar la asociación entre el riesgo de ejecuciones pobres en las pruebas motoras y las concentraciones de Mn en aire. Estos incluyeron modelos de regresión logística múltiple con dos puntos de corte para exposición de aire $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ referencia de la EPA y $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ que representa la mediana en nuestra muestra y exposición acumulada.

El primer método consideró las medidas de cada monitor y medianas correspondientes. Después, las exposiciones fueron divididas en dos niveles sobre y debajo de $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$. El segundo método utilizó el mismo procedimiento pero el punto de corte se localizó en las medianas sobre y debajo de $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Otra forma de evaluar esta asociación fue utilizando un índice de exposición acumulada, empleando la mediana de las concentraciones de cada monitor y multiplicándolas por el número de años que cada persona había vivido en la comunidad. Este índice fue dividido en cuarteles, el primer y último cuartiles fueron comparados.

Con el objetivo de estimar si el Mn en aire y sangre representaban un factor de riesgo para las funciones cognitivas, se llevó a cabo un análisis bivariado de regresión logística múltiple para cada variable de exposición (Mn en sangre y Mn en aire). Las variables dependientes (cognitivas) fueron dicotomizadas con puntos de corte basados en la literatura. Ambos análisis fueron ajustados por edad y escolaridad y género. También se incluyó en el modelo la ingestión de alcohol, tabaco y concentraciones de Pb en sangre en forma continua. El programa estadístico utilizado fue SPSS versión 10.0.

VII. RESULTADOS

1. Descripción de la población

El número de sujetos seleccionados para el estudio fue de 300, aunque solo 288 sujetos participaron en el estudio: 168 mujeres (58%) y 120 hombres (42%). Los 12 no participantes no eran diferentes al resto en cuanto a sus condiciones socioeconómicas ni de exposición. Los datos socioeconómicos por comunidad (edad, años de escolaridad, años de residencia en la comunidad y ocupación se muestran en la tabla 7.

Comunidad	Edad (años) media (DS)	Escolar (años) media, (DS)	Años viviendo en la comunidad (años) media, (DS)	Género n, (%)		Ocupación (n, %)			
				Fem	Masc.	Obrero	Campo	Ama de casa	Otros
Nonoalco	39.3 (14.1)	6.2 (3.4)	33.8 (17.0)	32(64)	18(36)		10 (20)	17(34)	22(44.0)
Malila	48.3 (16.9)	4.9 (3.6)	42.3 (22.4)	21(65)	11(35)		6 (19)	17(53)	9(28.1)
Chinoncuac	45.8 (17.3)	4.0 (3.9)	40.1 (21.8)	21(52)	19(48)	2 (5)	13(33)	20(50)	5(12.5)
Tolago	47.1 (16.0)	3.1 (3.2)	40.2 (20.5)	22(59)	15(41)	2 (5)	12(32)	22(60)	1(2.7)
Tlaltepingo	47.8 (19.3)	3.2 (3.1)	38.3 (23.0)	12(60)	8(40)		10 (50)	9(45)	1(5.0)
Huitznopala	43.7 (15.1)	5.1 (3.7)	36 (22.0)	17 (68)	8(32)		6 (24)	15(60)	3(12)
Cuxhuacán	45.1 (16.2)	3.3 (2.6)	41.3 (21.9)	13(46)	15(54)	1(4)	14 (50)	11(39)	2 (7.1)
Sta. Mónica	44.1 (14.8)	5.5 (3.2)	34.0 (20.0)	30(54)	26(46)	11(20)	8 (14)	28(50)	8(14.3)
Total	44.7 (16.0)	4.6 (3.5)	37.8 (20.8)	168(58)	120(42)	16(6)	79 (27)	139(48)	51(17.7)

Tabla 7. Datos socioeconómicos por comunidad

La media total de la edad fue de 44.7 años con DS de 16 años. Al comparar la edad entre hombres y mujeres se observó una diferencia significativa ($p=.007$), siendo los hombres de mayor edad en promedio. Los años de escolaridad y el tiempo de vivir en la localidad no fueron significativamente distintos entre hombres y mujeres. La media total para escolaridad fue de 4.6 años, lo que indica que hay una escolaridad baja. En cuanto al tiempo de vivir en la comunidad, la media total es de 37.7 años, que relacionado con la media de edad total (44.7), indica que una gran proporción de los sujetos ha permanecido en el área la mayor parte de su vida.

Las ocupaciones más frecuentes fueron: obrero (6%), campesino (27%), ama de casa (48%). El resto de las ocupaciones (17%) se reparten entre costureras, albañiles, comerciantes, y transportistas.

El 98% de los sujetos mostró lateralidad diestra, y ninguno reportó padecer alguna enfermedad neurológica o psiquiátrica. De los varones, 41 (34%) reportó consumir bebidas alcohólicas diariamente, y 22 (18%) tabaquismo diario, en contraste con 3 (2%) y 1 (<1%) en las mujeres, respectivamente.

El 72% de los sujetos manifestó tener un ingreso familiar menor a los \$1,000.00 pesos mensuales y con subsidio “Oportunidades”, mientras que el 26% reportó entre \$1,000.00 y \$3,000.00 y solo el 4% manifestó tener ingresos superiores a los \$3,000.00 pesos mensuales. Las comunidades de Santa Mónica, Nonoalco y Malila son los lugares en donde la población tiene un mejor ingreso.

2. Características de las viviendas

En promedio las viviendas cuentan con tres habitaciones, la mayoría de ellas tiene muros de concreto o adobe (85%). El 88% tiene acceso a agua a través de tuberías provenientes de tanque de

captación. Solamente el 46% de las viviendas tienen acceso a drenaje público; 18% utiliza letrina y 6% tiene fosa séptica. El 97% cuenta con luz eléctrica en su vivienda. En el 60% de las viviendas se utiliza leña para cocinar y 40% utiliza gas. El 76% de la población utiliza loza de barro vidriado, ya sea para cocinar o para guardar alimentos.

3. Resultados de Mn Ambiental (Suelo, cosechas y agua potable)

La tabla 8 muestra la estadística descriptiva de las concentraciones de Mn medidas en suelo, agua potable y hojas de pasto y maíz de cada comunidad.

Tabla 8. Concentraciones de Manganeso en muestras de suelo (0-20 cm), agua potable, pasto y maíz de cada comunidad

Comunidad	Suelo		Agua potable			Pasto		Maíz	
	n	Media (DS) mg/ kg	n	n>dl.*	Media (mg/L)*	n	Media (DS) mg/ kg	n	Media (DS) mg/ kg
Nonoalco	8	67 (21)	12	2	0.11	6	135 (31)	2	304 (87)
Malila	10	93 (36)	18	3	0.066	6	124 (40)	4	101 (29)
Chinconcuac	4	228 (40)	9	0	n.d.	3	221 (39)	1	263
Tolago	7	111 (84)	5	0	n.d.	3	177 (96)	4	73 (20)
Tlaltepingo	4	61 (40)	6	0	n.d.	3	86 (30)	1	25
Huiznopala	3	93 (53)	2	0	n.d.	2	52 (6)	1	20
Cuxhuacán	7	56 (18)	9	0	n.d.	4	62 (21)	3	37 (4)
Sta. Mónica	3	10 (4)	21	7	0.073	2	212 (110)	1	50

* Muestras > dl 0.04 mg Mn/L, n.d: no detectado, por encontrarse por debajo del índice de detección.

Las concentraciones de Mn extraídas con DTPA de menos de 7 mg kg⁻¹ indican que las plantas que crecen sobre ellas probablemente presentarán una deficiencia de Mn. Se considera que las concentraciones entre 7 y 12 mg kg⁻¹ proporcionarán un suministro moderado de Mn a plantas, mientras que en el suelo, con concentraciones mayores a 50 mg kg⁻¹, las plantas deben tener un

suministro adecuado de Mn (Castellanos y cols., 2000). Como se puede observar en la tabla 8, las concentraciones de Mn en suelo están en su mayoría dentro de los rangos considerados como normales; sólo en Santa Mónica las concentraciones de Mn son de deficientes a moderadas. El suelo de las comunidades que no están cerca de alguna fuente natural o antropogénica de Mn tiene las concentraciones más bajas (Santa Mónica y Cuxhuacán), mientras que Chinconcuac y Tolago muestran las concentraciones más altas en suelo.

Las concentraciones de Mn en las muestras de agua potable de cada comunidad estuvieron por debajo de los límites máximos permitidos, establecidos por la ley mexicana (0.15 mg/L, NOM, 1994). La mayoría estuvieron incluso por debajo de los límites de cuantificación de nuestro equipo (<0.04 mg/L), excepto en 2 de 5 manantiales en Nonoalco y Malila, donde se midieron 0.07 y 0.14 mg/L de Mn respectivamente, al final de la temporada de secas. En Santa Mónica, 4 de 7 manantiales mostraron concentraciones de Mn entre 0.03 y 0.14 mg/L durante la temporada de lluvias.

Reinmann y Caritat, 1998, reportan concentraciones normales de Mn en muestras de planta un rango entre 40 y 150 mg kg⁻¹. En Chinconcuac, Tolago y Santa Mónica, las muestras de pasto mostraron concentraciones por encima del rango normal. Las concentraciones de Mn en las muestras de maíz de Nonoalco y Chinconcuac están también por encima de este rango. Las muestras tomadas en las comunidades cercanas a plantas de procesamiento o extracción de Mn (Tolago, Malila), tienen concentraciones de Mn más altas que las comunidades expuestas principalmente a yacimientos naturales de Mn. Las comunidades lejanas a yacimientos naturales de Mn muestran en general concentraciones más bajas (Huiznopala), (ver tabla 8). Solamente las muestras de pasto de Santa Mónica son inesperadamente más altas. Esto en parte puede estar

relacionado con el hecho de que en esta área el suelo que forma rocas es ígneo y el pH del suelo es ácido, lo que induce la movilidad del Mn. En las otras áreas, las rocas son sedimentarias y ricas en carbonatos; por tanto, el pH del suelo es neutro y la movilidad de Mn menor.

En todas las muestras de granos de maíz analizadas, las concentraciones de Mn estuvieron por debajo de los límites de cuantificación (8.4 mg/kg).

4. Resultados de Mn en aire

En total se colocaron 28 monitores ambientales de los que se obtuvieron 81 mediciones que fueron asignadas a los participantes en las 8 comunidades. El número de personas asignadas a cada monitor se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Número de personas asignadas a cada monitor por comunidad.

Comunidad	Número de Monitores	Monitor I	Monitor II	Monitor III	Monitor IV	Monitor V	Total personas asignadas
Nonoalco	4	17	9	7	17		50
Malila	5	8	5	8	9	2	32
Chinconcuac	2	29	11				40
Tolago	3	13	7	17			37
Tlaltepingo	3	8	6	6			20
Huitznopala	2	12	13				25
Cuxhuacán	5	1	2	11	8	6	28
Sta. Mónica	4	17	16	18	5		56
Total	28						288

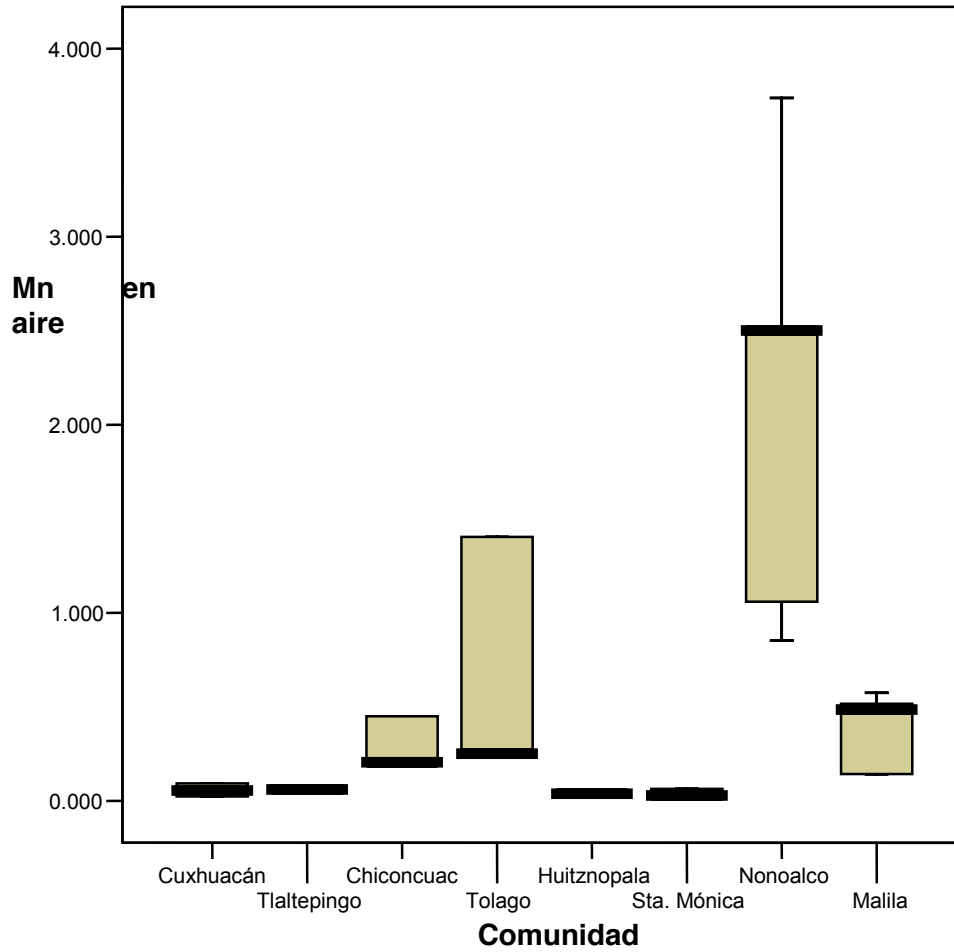
Las concentraciones de PM10 y su contenido de manganeso se muestran en la tabla 10. El número total de mediciones se obtuvo multiplicando el número de monitores en cada comunidad por el número de días en los cuales se obtuvieron datos validos. Las concentraciones de Mn en aire

tuvieron una variación de $0.029 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en Santa Mónica a $2.038 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en Tolago. La mediana para la muestra total fue de $0.10 \mu\text{g}/\text{m}^3$. La concentración más alta, en 24 horas, se encontró en Nonoalco ($5.86 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Las comunidades de Chinconcuac, Tolago, Malila y Nonoalco tuvieron medias de Mn en aire por encima de $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$, el nivel mínimo para neurotoxicidad establecido por la US.EPA (1997). Del total de la muestra estudiada se observó que 210 sujetos (73.2%) se encontraban en contacto con niveles por encima de $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y 168 (58.5%) por encima de $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$. La figura 4 muestra las concentraciones de Mn en aire por comunidad.

Tabla 10. Concentraciones de Mn en aire extramuros y PM10

Comunidad	# de mediciones	Mn en aire ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)				PM ₁₀ en aire ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)			
		Media	Mediana	Min	Max	Media	Mediana	Min	Max
Nonoalco	8	2.04	1.53	0.25	5.86	39.93	41.67	22.98	50.70
Malila	20	0.46	0.27	0.04	1.61	44.79	37.45	23.16	106.32
Chinconcuac	6	0.69	0.26	0.10	2.65	82.94	82.37	70.88	96.14
Tolago	6	0.82	2.03	0.16	2.65	120.03	103.16	70.88	222.28
Tlaltepingo	6	0.07	0.06	0.05	0.11	50.49	56.93	26.14	68.42
Huitznopala	8	0.05	0.04	0.01	0.11	27.94	27.72	23.86	32.46
Cuxhuacan	20	0.06	0.05	0.00	0.19	81.60	76.84	54.21	115.26
Sta. Mónica	7	0.04	0.02	0.01	0.11	47.94	49.12	16.14	66.32
Total	81	0.42	0.10	0.00	5.86	61.56	55.09	16.14	222.28

Figura 4. Niveles de Mn en aire (medianas) distribuidos por comunidad.



Al comparar las concentraciones de manganeso en aire entre las comunidades cercanas y lejana a las plantas encontramos diferencias significativas, siendo mayores las concentraciones en las comunidades cercanas a las plantas de procesamiento de manganeso. Tabla 11.

Tabla 11. Concentraciones de Mn y PM10 de acuerdo a la distancia de las comunidades a las plantas de manganeso ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

	Comunidades	
--	-------------	--

	Cercanas	Lejanas	Valor p
Manganeso Media geométrica	0.62	0.09	0.0001
PM 10 Media geométrica	71.8	56.1	0.0004

Cercanas: Chinconcuac, Tolago, Malila y Nonoalco. Lejanas: Cuxhuacán, Tlaltepingo, Huitzonpala y Santa Mónica

Al revisar si las concentraciones de manganeso en cada casa correspondían simplemente con la clasificación de comunidad cercana o lejana, encontramos que en algunas comunidades consideradas como lejanas, se encontraban hogares con concentraciones de manganeso por encima de la mediana de las concentraciones encontradas. ($0.09 \mu\text{g}/\text{m}^3$), mientras que en otras consideradas como cercanas, hubo concentraciones por debajo de este nivel.

Así, mientras en comunidades como Chinconcuac y Tolago, consideradas como cercanas, todas las casas tuvieron concentraciones por encima de la mediana, en otras como Cuxhuacán, considerada como lejana, algunas casas tuvieron concentraciones por encima de la mediana. En Malila, considerada como cercana, hubo casas que tuvieron concentraciones por debajo de la mediana.

5. Resultados de Mn en sangre

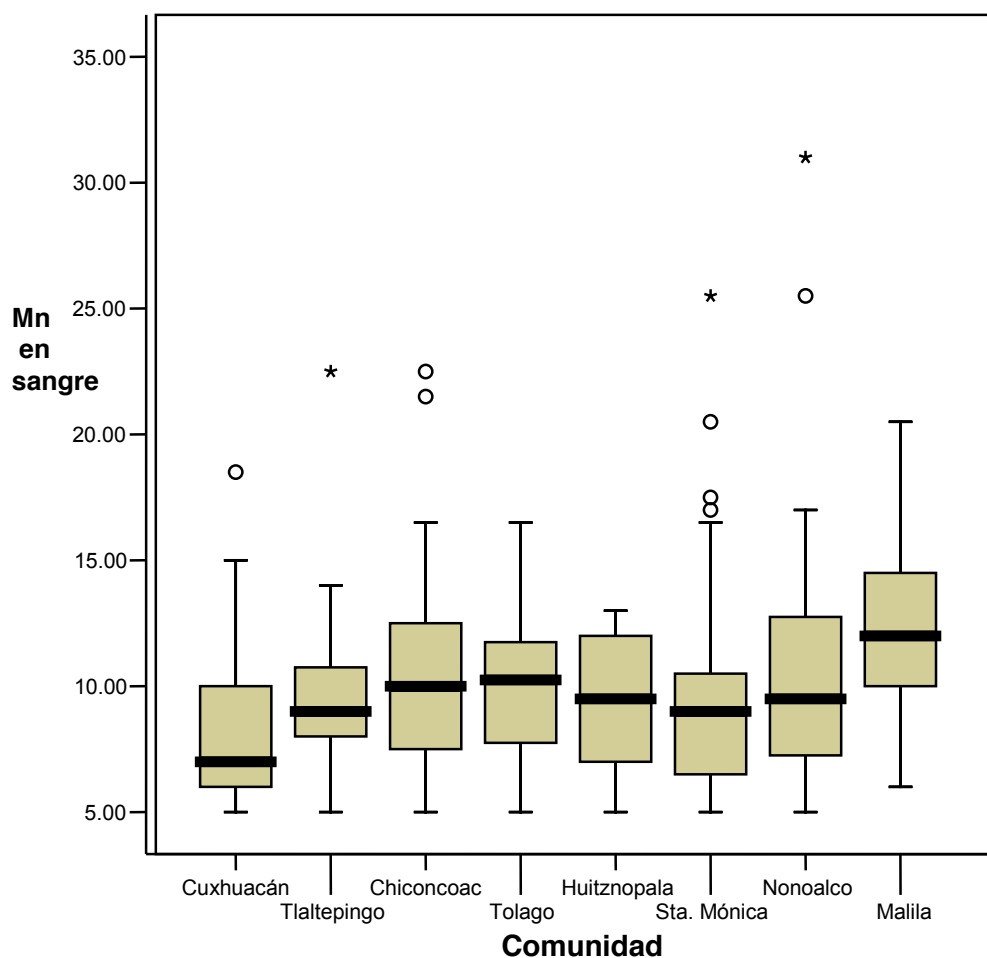
La media total de Mn en sangre fue de $10.16 \mu\text{g}/\text{L}$ (D.S. $4.14 \mu\text{g}/\text{L}$), con una media geométrica de $9.44 \mu\text{g}/\text{L}$.

Las medias más bajas de concentraciones de Mn en sangre se encontraron en Cuxhuacán $8.38 \mu\text{g}/\text{L}$, DS $3.6 \mu\text{g}/\text{L}$ y aquellas con valores de medias más altas fueron de Malila $12.18 \mu\text{g}/\text{L}$ DS $3.4 \mu\text{g}/\text{L}$. Ver tabla 12. El Cuadro II muestra los niveles de Mn en sangre por comunidad.

Tabla 12. Concentraciones promedio de Manganeso ($\mu\text{g}/\text{L}$) en sangre por comunidad

Comunidad	Mn en sangre <i>μg/L</i>	
	Media	s.d.
Malila	12.18	3.4
Chinconcuac	10.84	4.2
Nonoalco	10.78	5.3
Tolago	9.97	3.2
Tlaltepingo	9.90	4.2
Santa Monica	9.60	4.2
Huitznopala	9.33	2.9
Cuxhuacan	8.38	3.6
Total	10.16	4.14

Figura 5. Niveles de Mn en sangre distribuidos por comunidad.



En el total de la muestra se aprecia que el 51% de las personas tienen niveles de Mn menores a 10 $\mu\text{g/L}$, considerados como seguros, el 37% entre 10 y 14.9 $\mu\text{g/L}$ y casi el 12% tiene niveles por encima de los 15 $\mu\text{g/L}$.

Las mujeres tuvieron mayor concentración de Mn en sangre que los hombres (medias de 9.43 vs 7.83 $\mu\text{g/L}$, $p=0.001$). El coeficiente de cambio en (ln) Mn en sangre fue de -0.003 ($p=0.02$), por año.

Al comparar los promedios de concentraciones de Mn en sangre, según la ubicación de las comunidades respecto a la planta procesadora (Tabla 13), encontramos diferencias estadísticamente

significativas ($p < 0.001$) entre las comunidades cercanas y lejanas, teniendo en cuenta tanto la media aritmética como la media geométrica.

Tabla 13. Promedio de concentraciones de Mn en sangre en comunidades cercanas Vs lejanas con respecto a las plantas procesadoras $\mu\text{g/L}$

Manganeso en sangre	cercanas	lejanas	Valor p de la diferencia
Media aritmética	10.2 mg/L	8.68 mg/L	.001
Media geométrica	9.29 mg/L	8.00 mg/L	.001

Cercanas: Chinconcuac, Tolago, Malila y Nonoalco. Lejanas: Cuxhuacán, Tlaltepingo, Huitzonpala y Santa Mónica

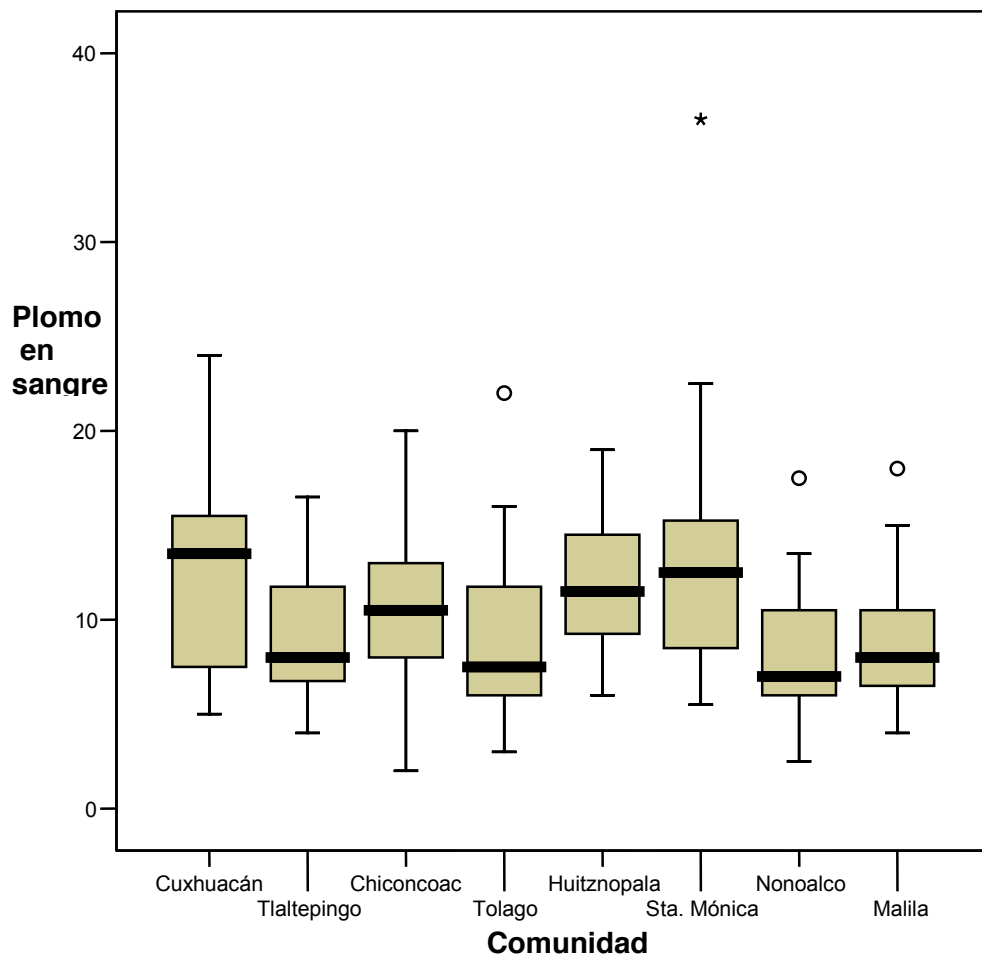
La justificación de medir plomo en sangre es el hecho de que este metal es capaz de provocar daños neurológicos y eventualmente interactuar con el manganeso. Es de mencionarse que las fuentes de plomo en la región de estudio incluyen tanto a las actividades mineras como al uso de loza de barro vidriado, pues esta última se considera actualmente la principal fuente de exposición, especialmente en el medio rural.

El promedio de las concentraciones de plomo en sangre de la población estudiada fue de 10.46 mg/dl con una desviación estándar de 4.77. En la tabla 14 se presentan los datos de plomo en sangre por comunidad (Figura 6).

Tabla 14. Concentraciones de plomo ($\mu\text{g}/\text{dl}$) en sangre por comunidad

Comunidad	Plomo en sangre $\mu\text{g}/\text{dl}$	
	Media	d.s
Santa Mónica	13.00	5.54
Cuxhuacan	12.70	4.89
Huitznopala	11.83	3.73
Chinconcuac	10.44	4.22
Tlaltepingo	9.43	4.18
Malila	8.92	3.56
Tolago	8.62	4.29
Nonoalco	8.09	3.24
Total	10.46	4.77

Figura 6. Niveles de Pb en sangre distribuidos por comunidad.



La comunidad en donde se registró la media más alta de plomo en sangre fue Santa Mónica, con 13.00 $\mu\text{g}/\text{dL}$ y con una DS de 5.54 $\mu\text{g}/\text{dL}$, y la más baja fue Tolago, con 8.62 $\mu\text{g}/\text{dL}$ y con una DS de 4.22 $\mu\text{g}/\text{dL}$.

Al analizar las concentraciones de Mn y Pb en sangre por individuo, estas no resultaron correlacionadas significativamente entre sí.

Con el fin de buscar una asociación posible entre concentraciones de Mn en aire y sangre, ajustamos un modelo de regresión lineal utilizando una transformación logarítmica de los valores

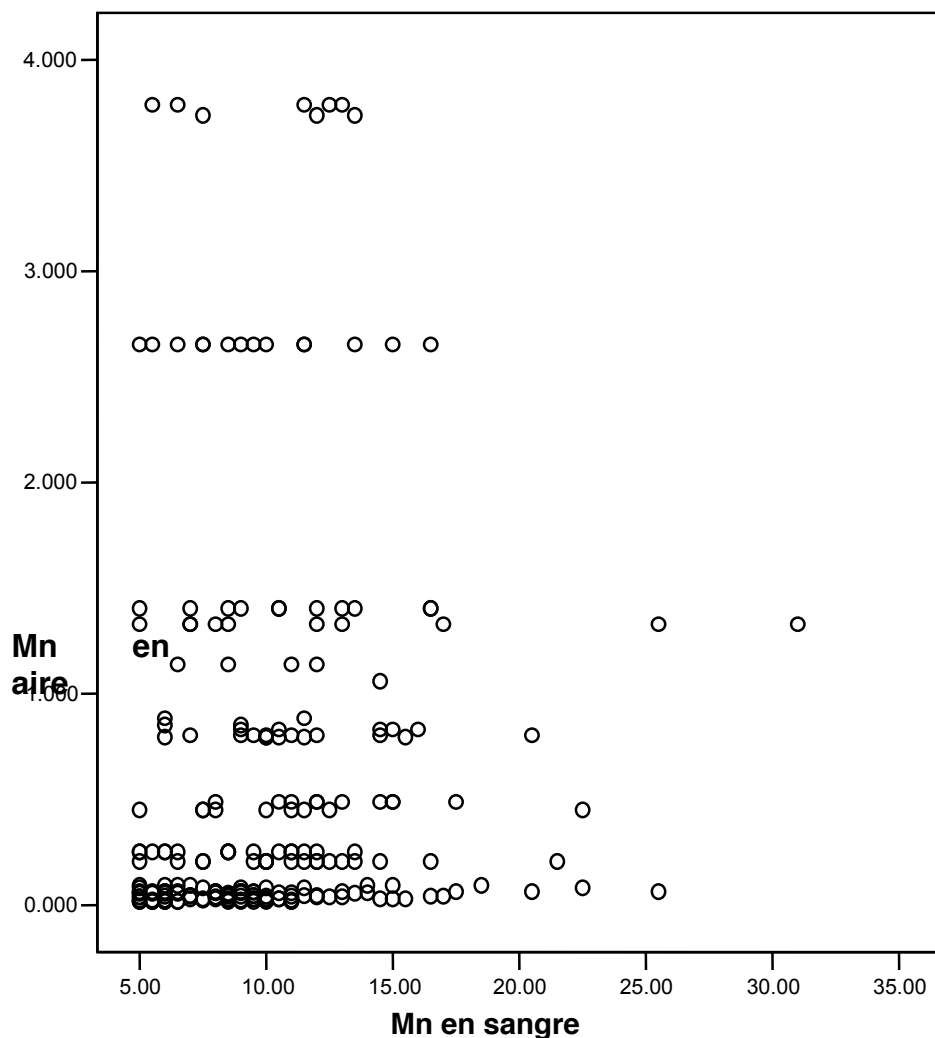
medidos en sangre. El Mn en sangre estuvo asociado con el Mn en el aire. El modelo que mejor explica las variaciones de Mn en sangre incluye concentraciones de metal en aire, edad y género (Tabla 15). R cuadrada=0.084. Figura 7

Tabla 15. Modelo de regresión lineal para explicar la variabilidad en las concentraciones de

manganeso en sangre (transformación logarítmica)

Mn en sangre (lg)	Coefficiente	(95% IC)	Valor p
Mn en aire (mediana)	0.074	0.018-0.130	0.01
Edad	-0.003	0.006-0.000	0.028
Género (0:hombre; 1:mujer)	0.158	0.059-0.257	0.002
Constante	2.018	1.786-2.249	0.0

Figura 7. Asociación entre niveles de Mn en aire y Mn en sangre.



6. Datos descriptivos de las pruebas motoras

Encontramos un alto porcentaje de errores en las pruebas que evalúan la ejecución de posiciones de manos (48.43% con la mano derecha y 63.41% con la mano izquierda) y en la coordinación de movimiento de manos (58.54%). También encontramos un alto porcentaje de errores cuando se les pidió a los individuos que llevaran a cabo tareas alternadas con la mano derecha (64.81%) y con la izquierda (63.76%); ejecución pobre de tareas que coordinan dos movimientos con la mano derecha (50.87%) y con la izquierda (45.99%); en ejecución y coordinación espacial al cambiar la

posición de las manos; fluidez para hacer dibujos secuenciales y en las tareas de elección y reacciones conflictivas (64.11%).

7. Asociación entre exposición a Mn y pruebas motoras

Al utilizar el punto de corte en $0.05\mu\text{g}/\text{m}^3$, el nivel máximo de exposición al Mn recomendado por la US.EPA (1997), ocho pruebas motoras tuvieron un riesgo importante de ejecución pobre de las personas con mayor exposición. Sin embargo, una desventaja de este punto de corte fue que compara una de las comunidades con menores concentraciones (Santa Mónica) contra todas las otras, cuyo punto de corte estaba por encima de este límite; por tanto, este método ofreció poca discriminación dentro de la población estudiada.

El punto de corte $0.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ (mediana de nuestros datos) permite la división de prácticamente toda la población, en 50% con mayor exposición y 50% con menor exposición.

Bajo este criterio, tres de las pruebas neuromotoras reportaron un riesgo importante de ejecución pobre de individuos en la categoría de mayor exposición (coordinación de dos movimientos, ejecución de mano izquierda; cambio de posición de mano, ejecución de mano izquierda; y reacción conflictiva).

Considerando el índice de exposición acumulada, que lo obtuvimos en cuartiles (para tener variabilidad por debajo o encima del punto de corte) y ajustando por edad y escolaridad, encontramos que las pruebas motoras que fueron significativas estadísticamente y consistentes en los tres análisis fueron: coordinación en ejecución de dos movimientos, cambio de posición de la mano izquierda y tareas de reacciones conflictivas. La ejecución pobre de estas tres pruebas se relacionó con los niveles altos de exposición a Mn (Tabla 16). Se encontró un efecto significativo

de la edad y la escolaridad en la mayoría de las pruebas (los modelos logísticos están ajustados a estas variables). Ninguna otra variable (consumo de alcohol, estado socioeconómico o condiciones en el hogar) mostraron un efecto significativo.

No encontramos una asociación importante entre la ejecución motora y los niveles de Mn o Pb en sangre.

Tabla 16. Resultados de la Asociación entre Exposición a Mn y Pruebas Motoras utilizando diferentes puntos de corte (Ajustados por edad y escolaridad)

	Mediana con punto de corte 0.05 (EPA)	Mediana con punto de corte 0.1 (mediana)	Índice de exposición acumulada en cuartiles
Tocar dedos velocidad mano derecha	1.33 (0.67, 2.63)	1.14 (0.62, 2.08)	1.12 (0.44, 2.83)
Tocar dedos velocidad mano izquierda ⁺	1.28 (0.63, 2.59)	1.02 (0.55, 1.89)	1.13 (0.43, 2.96)
Tocar dedos velocidad mano derecha precisión ⁺	3.09 (1.33, 7.21)	1.57 (0.83, 2.99)	1.99 (0.67, 5.92)
Tocar dedos velocidad mano izquierda precisión ⁺ *	2.18 (0.96, 4.95)	1.21 (0.63, 2.34)	1.19 (0.42, 3.36)
Reproducir posiciones de las manos ejecución mano derecha**	2.88 (0.95, 8.79)	1.27 (0.57, 2.83)	1.42 (0.31, 6.43)
Reproducir posiciones de las manos ejecución mano izquierda**	2.56 (0.55, 11.88)	1.03 (0.36, 2.91)	--
Reproducir posiciones de las manos ejecución en espejo mano derecha **	0.90 (0.49, 1.66)	0.98 (0.57, 1.67)	1.59 (0.72, 3.52)
Reproducir posiciones de las manos ejecución en espejo mano izquierda **	0.89 (0.47, 1.68)	1.01 (0.59, 1.75)	1.30 (0.58, 2.93)
Coordinación movimientos de las manos, ejecución en espejo**	1.42 (0.77, 2.62)	1.48 (0.86, 2.53)	1.21 (0.55, 2.67)
Alternar movimientos, ejecución mano derecha**	1.44 (0.55, 3.79)	1.20 (0.53, 2.70)	1.95 (0.52, 7.27)
Alternar movimientos, ejecución mano izquierda*	1.55 (0.59, 4.06)	1.25 (0.56, 2.79)	1.78 (0.48, 6.55)
Coordinación de dos movimientos fluidez mano derecha. ⁺	1.12 (0.63, 2.007)	1.09 (0.65, 1.85)	1.66 (0.74, 3.70)
Coordinación de dos movimientos fluidez mano izquierda. ⁺	1.03 (0.57, 1.84)	0.96 (0.57, 1.63)	1.12 (0.50, 2.48)
Coordinación de dos movimientos, ejecución mano derecha ⁺ **	2.71 (0.32, 22.80)	0.80 (0.19, 3.31)	0.96 (0.06, 16.30)
Coordinación de dos movimientos, ejecución mano izquierda ⁺ **	2.36 (0.87, 6.38)	1.99 (1.15, 3.43)	3.69 (0.90, 15.13)
Ritmos asimétricos, ejecución	1.14 (0.55, 2.36)	1.43 (0.74, 2.79)	1.60 (0.58, 4.44)
Cambio de posición de la mano, ejecución mano derecha.	2.21 (1.03, 4.78)	1.12 (0.57, 2.21)	1.77 (0.65, 4.85)
Cambio de posición de la mano, ejecución mano izquierda.	2.73 (1.25, 5.97)	1.98 (0.99, 3.95)	3.09 (1.07, 8.92)
Cambio de posición de la mano, coordinación espacial mano derecha	1.21 (0.50, 2.94)	0.72 (0.33, 1.57)	1.11 (0.36, 3.42)
Cambio de posición de la mano, coordinación espacial mano izquierda.	1.03 (0.42, 2.56)	0.76 (0.34, 1.70)	0.86 (0.25, 2.91)
Fluidez de dibujos secuenciales	2.13 (1.13, 4.01)	1.25 (0.48, 3.28)	2.04 (0.33, 12.63)
Continuidad de secuencias en dibujos secuenciales	2.83 (0.77, 10.43)	1.71 (0.65, 4.50)	0.72 (0.13, 3.80)
Reacciones de elección	2.14 (1.03, 4.43)	1.19 (0.64, 2.22)	1.66 (0.64, 4.34)
Reacciones conflictivas	2.84 (1.49, 5.40)	2.08 (1.17, 3.71)	2.30 (1.002, 5.28)

8. Asociación entre exposición a Mn y pruebas cognitivas

La tabla 17 muestra los resultados del análisis de regresión logística con las concentraciones de Mn en aire como variable de exposición. Al utilizar el punto de corte de $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$, se observa que resulta como factor de riesgo para la pobre ejecución de la prueba de retención de dígitos. OR=1.75, CI (1.01 – 3.06). Al utilizar el punto de corte de $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$, éste no resulta como factor de riesgo para la mala ejecución de ninguna prueba. La edad resulta factor de riesgo significativo en la prueba de estado cognitivo general (Mini Mental State Examination, MMSE), retención de dígitos y tareas relacionadas con lenguaje, memoria y visoconstrucción en ambos modelos. La escolaridad resulta, por el contrario, factor de protección significativo en todas las tareas cognitivas, y sólo deja de tener influencia en los puntajes relacionados con depresión (Inventario de Beck e Inventario de Depresión Geriátrica). El consumo de alcohol y tabaco no fueron factores que alteraran la ejecución de ninguna de las pruebas. Las concentraciones de Mn, las concentraciones de Pb en sangre y el índice de exposición acumulada no resultaron significativos como factores de riesgo o protección para la ejecución de ninguna de las pruebas cognitivas.

Tabla 17. Resultados del análisis bivariado de regresión logística tomando como variable independiente las concentraciones de Mn en aire, y como variables dependientes las pruebas cognitivas; ajustando por edad, escolaridad y género.

Función	Mn en Aire 0.05 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Mn en aire 0.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Estado Cognitivo General	1.38 (0.68-2.82)	1.19 (0.64-2.21)
Atención	1.24 (0.67-2.29)	1.75 (1.01-3.06)
Fluidez Semántica	0.56 (0.23-1.34)	0.81 (0.38-1.71)
Fluidez Fonológica	1.48 (0.61-3.61)	1.32 (0.57-3.08)
Visoconstrucción	1.30 (0.69-2.45)	0.99 (0.56-1.75)
Memoria verbal	1.19 (0.64-2.22)	1.17 (0.67-2.03)
Memoria visual codificación	1.12 (0.60-2.10)	0.99 (0.56-1.74)
Memoria Visual evocación	1.31 (0.71-2.41)	1.05 (0.61-1.82)
Depresión (Beck)	3.01 (0.66-13.65)	0.55 (0.20-1.51)
Depresión (geriátrica)	3.40 (0.80-14.53)	2.13 (0.68-6.71)

VIII. DISCUSION

Este estudio evalúa la exposición a Mn y sus efectos sobre la ejecución neuropsicológica en pruebas motoras y cognitivas, en una muestra poblacional representativa de comunidades de un distrito minero de Mn en el estado de Hidalgo. Junto con el estudio piloto de Santos Burgoa y cols., (2001), esta es la primera investigación en llevarse a cabo en población mexicana expuesta no ocupacionalmente a altas concentraciones de Mn en aire; la mayor parte de estudios reportados en la literatura están relacionados con poblaciones expuestas a concentraciones altas de Mn en ambiente laboral, como en el caso de mineros y trabajadores de plantas fundidoras (Baldwin, 1999).

En este trabajo analizamos las concentraciones de Mn en el ambiente para evaluar diferencias en la exposición a Mn entre las comunidades estudiadas, así como para describir posibles rutas de exposición. Encontramos que en comunidades cercanas a las plantas de procesamiento y sitios de explotación minera, las concentraciones de Mn en suelo y en las muestras de pasto y maíz, son mayores que en comunidades expuestas a fuentes naturales de Mn. En las comunidades localizadas lejos de los sitios de explotación, los contenidos de Mn en suelo y cosechas fueron menores. No hemos evaluado contenidos de Mn en los alimentos, pero las muestras de granos de maíz medidas en las comunidades con mayores contenidos de Mn en suelos estuvieron por debajo de los límites de cuantificación. Encontramos que las concentraciones de Mn en el agua potable no son una fuente de exposición a Mn relevante para la población local.

Las concentraciones de Mn en las partículas del aire fueron mayores en las comunidades que están cerca de los sitios de extracción o procesamiento de Mn. Los depósitos de desecho de las plantas de procesamiento contienen hasta dos órdenes de magnitud más de Mn que en el suelo de la región.

Por tanto, suponemos que los depósitos de desechos mineros pueden contribuir al aumento en las concentraciones de Mn en el aire, además de las emisiones de Mn de la planta de nodulación.

Por estas razones, el componente de inhalación es probablemente el más relevante para esta población, dada la gran concentración de Mn en las partículas suspendidas en el aire. La recomendación internacional sobre límites de seguridad en exposición no ocupacional es de $0.05\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Environmental Protection Agency EPA, 1997), la cual es mucho menor que las concentraciones encontradas en este estudio.

Diversas investigaciones, igualmente reportan la inhalación como la fuente de exposición más importante (comparada con otras rutas, tales como la exposición oral), el Mn inhalado puede entrar en el sistema nervioso central (SNC) directamente con tres órdenes de magnitud, de mayor eficacia comparada con la ruta oral (Andersen y cols., 1999) y se enfatiza la relevancia de la exposición a manganeso por la vía aérea (Tjälve y Henriksson, 1999; Aschner y Dorman, 2006), por la capacidad del metal para ser captado por el bulbo olfatorio, transportarse de forma interneuronal e introducirse en el SNC sin la intervención de la barrera hematoencefálica. Mergler y cols. (1997) y Baldwin y cols. (1999) proponen como mejor indicador de exposición a Mn la medición de partículas del metal suspendidas en el aire.

Como se menciona anteriormente, se encontraron niveles de Mn en aire por encima del nivel recomendado por la EPA, en el 73% de los sujetos, la mayoría de ellos residentes de las comunidades cercanas a las plantas de procesamiento.

En cuanto a los resultados de Mn en sangre, Santos-Burgoa y cols. (2001) reportaron una media de $17.71\mu\text{g}/\text{L}$ en la misma población; sin embargo, nosotros encontramos niveles más bajos, con una media de $10.16\mu\text{g}/\text{L}$. Esta diferencia confirma que las emisiones antes de 2000 fueron probablemente mayores, ya que durante 2001 y 2003 la producción de Mn disminuyó debido a una

baja en la demanda internacional de Mn, justo en las fechas en que se realizaron las mediciones de Mn en sangre. El Mn en sangre representa la exposición durante las últimas 4 semanas, y por lo tanto, los resultados están sujetos a cambios ocurridos en este período y a una regulación dentro del organismo relativamente compleja.

Al comparar los niveles de Mn en sangre entre hombres y mujeres se encontró que las mujeres tienen una concentración de Mn en sangre significativamente mayor que la de los hombres. Este hallazgo es similar a lo reportado por Kondakis y cols. (1989) y Baldwin y cols. (1999), quienes argumentan que existen diferencias metabólicas y nutricionales entre géneros y que las mujeres absorben más Mn que los hombres. Sin embargo, no hay evidencia de que las mujeres estén en mayor riesgo por exposición a Mn.

Los niveles de Mn en sangre en este estudio mostraron una correlación estadísticamente significativa con los niveles de Mn en aire. La relación entre el Mn en aire y Mn en sangre nunca se ha descrito claramente en estudios ocupacionales. Una hipótesis al respecto sugiere una mayor variación en la exposición ocupacional, a diferencia de la exposición ambiental, que es más estable. Ya que el Mn en sangre es un indicador de concentración corporal, su relación con la concentración de aire podría ser más evidente al reflejar una exposición uniforme a través del tiempo, sin la interferencia causada por las fluctuaciones de los establecimientos ocupacionales (Lucchini y cols., 1995). De esta forma, el Mn en sangre puede ser considerado como un marcador de concentración corporal (Smargiassi y Mutte, 1999); en el caso de exposición crónica en ambientes abiertos.

En este trabajo fue necesario explorar la relación de Pb con Mn en sangre, ya que este metal es muy frecuente como contaminante en la comida y cocina mexicana y tiene potencial neurotóxico. La principal fuente de Pb en esta población es el barro horneado utilizado para cocinar y almacenar

los alimentos (Rojas-López y cols., 1994). Se encontraron diferencias en la concentración de Pb en sangre entre las comunidades; sin embargo, no encontramos una correlación significativa entre la ejecución motora y cognitiva con Pb en sangre.

En relación con los resultados de los efectos del Mn sobre la salud, varios estudios han encontrado signos neurológicos iniciales con concentraciones de Mn en aire en el rango de 0.022 a 1mg/m³ (Mergler y cols., 1994; Iregren, 1990; Wennberg y cols., 1992; Chia y cols., 1995; Lucchini y cols., 1999).

Las alteraciones en las tareas motoras se asociaron con niveles altos de Mn en aire, pero no con niveles de Mn en sangre, lo cual concuerda con estudios llevados a cabo por Mergler y Baldwin, (1997). Estos autores no describen una correlación clara entre el Mn en sangre y efectos motores, pero sí una gran correlación con Mn en aire (0.027 µg/m³) y pruebas motoras.

En el presente estudio se encontraron alteraciones en la capacidad para ejecutar tareas que evalúan la coordinación de movimiento y el cambio de posiciones de las manos. Estas tareas se utilizan para evaluar la organización dinámica de la acción motora. La organización de una acción motora que tiene lugar durante un período de tiempo requiere cierto grado de generalización de las inervaciones motoras y su conversión en “melodías cinéticas” (Christensen, 1987). Las divisiones de la corteza cerebral responsables de componentes diferentes para la acción motora son las áreas occipitales, post centrales y motoras del cerebro. Las áreas premotoras se encargan de organizar la dinámica del movimiento y los sistemas frontales ejercen la discriminación y controlan las habilidades (Christensen, 1987). Las reacciones conflictivas son tareas que evalúan la regulación verbal de movimientos; responden de acuerdo con parámetros de los estímulos y tiene que ver con las alteraciones premotoras (Ardila y Ostrosky-Solís, 1991).

Nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Iregren (1990), quien aplicó una prueba neuromotora computarizada a trabajadores expuestos a Mn y encontró que el Mn parece afectar movimientos coordinados y secuenciales de las extremidades superiores. En otro estudio, Mergler y colaboradores (1994) emplearon una batería de pruebas neuropsicológicas en trabajadores y encontraron que los trabajadores expuestos a Mn tuvieron ejecución motora más baja que los sujetos control, especialmente en tareas que requieren alternar y coordinar movimientos con una o ambas manos. Otros estudios reportaron también alteraciones en las habilidades manuales en trabajadores de fábricas de baterías (Iregren, 1990; Roels y cols., 1992). Wennberg y colaboradores (1992) reportaron que la lentitud en los movimientos alternados de las manos es un signo inicial de disfunción extrapiramidal.

Existe evidencia que sustenta que la exposición a Mn a través de la inhalación produce el desarrollo de un síndrome neurológico progresivo que implica alteraciones motoras, el cual inicia con síntomas muy leves (Barbeau, 1984; Calne y cols., 1994; Chia y cols., 1995). Las alteraciones motoras que parecen ser más sensibles a la exposición a Mn son aquellas que requieren coordinación rápida, secuencia y alternancia de movimientos (Hudnell, 1999). Iregren (1990) sugirió que la capacidad para repetir movimientos simples podría ser particularmente sensible a la exposición a Mn.

Varios estudios llevados a cabo en lugares de trabajo reportan otros efectos de la exposición a Mn en funciones motoras manifestadas por estabilidad manual deficiente y temblor (Mergler y cols., 1994, Roels, 1992). Pocos estudios reportan una correlación negativa entre el total de niveles de Mn en sangre y ejecuciones motoras manuales (Lucchini y cols., 1995; 1999., Roels y cols., 1987). Se ha sugerido que la severidad de la disfunción motora depende de la dosis de exposición al Mn e implica tanto la cantidad como la duración de la exposición (Iregren, 1990; Roels y cols., 1992).

Encontramos que las pruebas motoras que fueron estadísticamente significativas y consistentes en los tres modelos de análisis fueron: coordinación de dos ejecuciones de movimientos, cambio de posición en la mano izquierda y tareas de reacciones conflictivas; esta es una observación importante en este estudio, que concuerda con el concepto de una acción neurotóxica a largo plazo del Mn, basada probablemente en una toxicidad acumulativa.

Otro hallazgo importante de este estudio, en cuanto a las pruebas cognitivas, fue la presencia de alteraciones en tareas que evalúan atención. Mergler y cols., 1997, reportaron alteraciones en la ejecución de pruebas cognitivas correlacionado con niveles menores de Mn en aire ($0.027 \mu\text{g}/\text{m}^3$), en comparación con los niveles de Mn en aire que nosotros reportamos en estas comunidades. Encontramos que el Mn en aire se asoció como factor de riesgo sobre las ejecuciones en tareas que valoran atención en la tarea de repetición de dígitos (*span* de dígitos). Esto concuerda con lo obtenido por Lucchini y cols. (1995), quienes reportaron en trabajadores expuestos alteraciones en la ejecución en la prueba de “símbolos y dígitos”, la cual es utilizada para valorar tanto atención como concentración (Lezak, 2004).

En un estudio comparativo de casos y controles realizado con niños expuestos a Mn de forma no ocupacional, realizado por He y cols. (1994), se encontró también una relación inversa entre Mn en sangre y ejecuciones en *span* de dígitos. Sin embargo, el trabajo llevado a cabo por Mergler y cols. (1999) en adultos expuestos no ocupacionalmente no reporta resultados significativos al utilizar esta prueba en el caso de hombres, y al contrario de lo esperado, se encuentra una mejor ejecución en mujeres con altos niveles de Mn en sangre, lo que se atribuye a un efecto excitador del Mn en el organismo.

En este estudio se encontraron concentraciones de Mn en sangre mayores a lo reportado por el estudio de Mergler y cols. (1999) de $7.5 \mu\text{g}/\text{l}$, utilizado como punto de corte para concentraciones

altas, que fue asociado con una pobre ejecución en tareas de aprendizaje y memoria. Roels y cols. (1987) encontraron alteraciones neurológicas en una muestra de trabajadores con una media de Mn en sangre de 10 $\mu\text{g/l}$, y Kondakis (1989) con una media de 15.8 $\mu\text{g/l}$. Sin embargo, en este estudio no encontramos correlaciones de los niveles de Mn en sangre con ninguna de las pruebas cognitivas; en otros estudios los niveles de Mn en sangre han resultado controversiales como biomarcadores de exposición crónica (Smargiassi y Mutti, 1999), sin encontrar asociaciones específicas entre los niveles de Mn en sangre y las ejecuciones en pruebas cognitivas, que evalúan atención y memoria.

El promedio de edad de la muestra estudiada se asoció con el tiempo de vivir en la comunidad, lo que puede indicar una exposición crónica a Mn.

La edad fue significativa como factor de riesgo sobre la ejecución de las pruebas. Esto se ha documentado por Lezak (2004), y explica que aquellos sujetos con edad avanzada podrían ser especialmente vulnerables a la exposición por inhalación a concentraciones altas de Mn.

La literatura reporta una mejor ejecución de pruebas cognitivas en el caso de sujetos con escolaridad alta (Ostrosky-Solís y cols., 1998). Esto concuerda con los resultados obtenidos, en los que los años de instrucción representaron un factor de protección para la ejecución en algunas pruebas neuropsicológicas, principalmente las que tienen que ver con atención y memoria. Sin embargo, la baja escolaridad de esta población podría representar un factor de riesgo en cuanto al estado cognitivo, junto con la edad.

La exposición a altas concentraciones de Mn se ha asociado con un daño a los ganglios basales (Calne y cols., 1997). Estas estructuras, que forman parte de la vía extrapiramidal, además de estar involucradas en la regulación del movimiento (Fauci y cols., 1998), se han asociado con diferentes funciones cognitivas, entre las que se encuentran la atención (Rektor y cols., 2005), la memoria de

trabajo (Lewis y cols., 2004) y las habilidades visoespaciales; así como con los trastornos obsesivo-compulsivo, esquizofrenia (Lezak, 2004); y funciones ejecutivas (Nieoullon, 2002). Esta última relación con funciones ejecutivas se puede confirmar con los resultados que reportamos en las pruebas motoras en las que las alteraciones en movimientos requieren planeación y organización dinámica, y se explican en función de un problema de organización, planeación y evaluación de la conducta motora descrito por Luria (1980).

A partir de lo reportado por Rodríguez-Agudelo y cols. (2006), Mergler y cols. (1999), Bowler y cols. (1999), se muestra que existen efectos neuropsicológicos, tanto motores como cognitivos importantes por exposición a Mn en ambientes no ocupacionales, en los que las alteraciones motoras ampliamente documentadas podrían estar relacionadas con un impedimento en el control ejecutivo, en el que la atención está involucrada.

En esta investigación no se encontró que existiera una alta prevalencia de depresión. Esto coincide con el estudio de Bowler y cols. (1999) realizado con una población expuesta de forma no ocupacional, en el que no se encontró a la depresión como una alteración significativa del estado de ánimo, mientras que otras alteraciones emocionales como la ansiedad e irritabilidad sí lo fueron. Para futuras investigaciones sería recomendable la exploración más amplia de alteraciones neuropsiquiátricas presentes en este tipo de poblaciones.

No existe a la fecha un biomarcador confiable de exposición a Mn (Mergler y cols., 1999) que ofrezca una medida de la dosis acumulada, o de exposición en un momento dado. Al presente parece haber poca consistencia en cuanto a las relaciones entre parámetros biológicos de exposición a Mn (sangre, orina, cabello) y medidas de exposición externa. Uno de los principales hallazgos de este estudio es la relación significativa encontrada entre Mn en sangre y Mn en aire. Para futuras investigaciones se sugiere continuar con la medición de ambas variables de exposición

a Mn para lograr mayor consistencia y precisión en la relación del metal con alteraciones neurológicas.

Nuestros datos apoyan reportes publicados anteriormente que describen la función motora como una herramienta básica para la evaluación de los efectos de Mn en el sistema nervioso. Podemos sugerir, por lo tanto, que incluso en la ausencia de un cuadro neurológico claro, existe un déficit motor incipiente en la población ambientalmente expuesta a niveles altos de Mn en aire.

Es de gran importancia un adecuado seguimiento de los sujetos expuestos, ya que la identificación temprana de alteraciones relacionadas a exposición a Mn permite llevar a cabo acciones para controlar las emisiones Mn en aire con el fin de prevenir el avance de una lesión neurológica a un estado irreversible.

Una posible limitación metodológica en esta investigación es la asignación de valores de Mn en aire a una cantidad variada de sujetos en función de la cercanía con el monitor, lo que disminuye la posibilidad de conocer el nivel exacto del metal al cual está expuesto cada sujeto.

Para próximos estudios relacionados con exposición a Mn sería importante incluir pruebas neuropsicológicas especializadas en atención (atención sostenida y selectiva) que clarifiquen los datos obtenidos. El seguimiento en la valoración neuropsicológica de esta población puede contribuir en la prevención de lesiones al SNC que llegaran a ser irreversibles.

IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los contenidos de Mn en tejidos vegetales se encuentran elevados en algunas de las localidades estudiadas. Particularmente en Chinconcuac es notoria la mayor absorción de Mn tanto por pastos como maíz. En esta localidad atribuimos lo anterior a la influencia de las emisiones atmosféricas de la planta de nodulación de Otongo.

Las concentraciones de Mn en sangre en un porcentaje importante de la población estudiada, están por encima de los recomendados por los expertos ($10\mu\text{g/L}$). Estas concentraciones son significativamente mayores en las comunidades clasificadas como cercanas a las plantas de procesamiento de Mn.

Encontramos concentraciones promedio de Mn en aire que superan las recomendaciones internacionales para población no ocupacionalmente expuesta ($0.05\ \mu\text{g}/\text{m}^3$), especialmente en las comunidades clasificadas como cercanas a las plantas de procesamiento donde los promedios en 24 horas alcanzan $2.65\ \mu\text{g}/\text{m}^3$

Del análisis de los datos obtenidos podemos concluir que la principal vía de exposición es la inhalada, dadas las características toxicológicas del Mn.

Existe una alta prevalencia (60%) de alteraciones en pruebas que miden actividad motora y una asociación significativa entre las altas concentraciones de Mn en aire y el riesgo de desarrollar deficientemente las pruebas motoras y de atención, hallazgo que es consistente con lo reportado en otros estudios realizados en ambientes ocupacionales y no ocupacionales. Esto es consistente después de ajustar por factores de confusión como edad y años de escolaridad.

Se propone el diseño y ejecución de un programa integrado de gestión del ecosistema tendiente a disminuir la exposición a Mn. Este programa deberá tener las características de ser

interdisciplinario e interinstitucional, y además contar con indicadores de proceso y metas que permitan medir objetivamente los avances. Desde el punto de vista de salud, esto incluiría generar un acuerdo para establecer metas sanitarias que permitan reducir progresivamente las concentraciones de Mn en aire medido en los sitios donde se encuentra la población.

Uno de los siguientes pasos debiera ser el analizar las medidas técnicamente viables para disminuir las emisiones de Mn en el aire por parte de las plantas de procesamiento, dado que se ha comprobado que en las localidades cercanas son mayores y que esto se asocia con un mal desempeño en las pruebas neuropsicológicas.

Recomendamos realizar un estudio más detallado de especiación de Mn en la zona. Este comprendería por un lado, a las emisiones de la planta de nodulación de Otongo, así como a los suelos en los terrenos de la comunidad de Chinconcuac. El objetivo sería corroborar si las emisiones atmosféricas de la planta de nodulación de Otongo son los responsables de las concentraciones relativamente elevadas de Mn en pasto y maíz de la comunidad de Chinconcuac.

Es recomendable estabilizar y aislar mejor a los residuos de la planta de nodulación de Otongo, así como las presas de lodos de las plantas de Nonoalco, para evitar su dispersión en el ambiente.

También es necesario realizar medidas de conservación de suelo en todas las cuencas para minimizar el aporte de sedimentos a los cauces y mantener la productividad de las tierras agrícolas.

Se propone un programa de comunicación de riesgos que se integre a las actividades cotidianas que realizan La Secretaría de Salud y otras dependencias, que cuente con personal capacitado y que se actualice en sus contenidos permanentemente, de acuerdo con nuevos hallazgos e información respecto a los riesgos de exposición a Mn.

Por otro lado consideramos necesario realizar un estudio para medir los niveles de exposición en poblaciones especialmente vulnerables, como sería el caso de los niños.

IX. REFERENCIAS

- Alexandri R, Martínez V. (1988). Geología del Distrito Manganesífero de Molango, Hidalgo. In: Salas G, editors. Geología Económica de México. Fondo de Cultura Económica, Mexico, pp. 401-408.
- Alves, G., Thiebot, J., Tracqui, A., Delangre, T., Guedon, C. & Lerebous, E. (1997). Neurologic disorders due to brain manganese deposition in jaundiced patient receiving long term parenteral nutrition. JPEN. J. parenter. enteral nutr., 21, 41-45.
- Andersen M.E., Gearhart J. M. & Clewell H.J. (1999). Pharmacokinetic data needs to support risk assessment for inhaled and ingested manganese. Neurotoxicology 20,161-172.
- Ardila A, Ostrosky-Solis F. (1991). Diagnóstico del Daño Cerebral: enfoque neuropsicológico. Trillas, Mexico, pp. 256.
- Aschner M, Aschner L. (1991). Manganese neurotoxicity: cellular effects and blood-brain barrier transport. Neurosci Biobehav Rev 15:333-340.
- Aschner M. (2000). Neuron-astrocyte interaction: implications for cellular energetics and antioxidant levels. Neurotoxicology .21:1101-1107.
- Aschner, M. (1997). Manganese uptake and distribution in Central Nervous System. Abstract of the 15th International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp. 5.
- Aschner, M., Vrana, K. & Zheng, W. (1999). Manganese uptake and distribution in the central nervous system (CNS). Neurotoxicology, 20, 173-180.

- Aschner M, Dorman D. (2006) Manganese: pharmacokinetics and molecular mechanisms of brain uptake. *Toxicol Rev.* 25(3):147-54.
- Aschner M., Gannong M. (1994). Manganese transport across the rat blood-brain barrier: Saturable and transferring dependent transport mechanism. *Brain Res. Bull.* 33:345-349.
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Agencia para el Registro de Enfermedades y Sustancias Tóxicas). (2000). Toxicological profile for manganese. (Update) Department of Health and Human Services, Atlanta G.A., New Jersey, EUA Hazardous Substance Fact Sheet.
- Baldwin, M., Mergler, D., Larribe, F., Bélanger, S., Tardif, R., Bilodeau, L. & Hudnell, K. (1999). Bioindicator and exposure data for a population based study of manganese. *Neurotoxicology*, 20, 327-342.
- Barbeau A. (1984). Manganese and extrapyramidal disorders (a critical review and tribute to Dr. George C. Cotzias). *Neurotoxicology*; 5:13-35.
- Barbeau, A., Inoué, N. & Cloutier, T. (1976). Role of manganese in dystonia. *Adv Neurol.*, 14, 339-352.
- Barr, M. & Kiernan, J. (1994). *El sistema nervioso humano: un punto de vista anatómico.* (5ª edición). México: Harla.
- Beck, A.T. (1978). *Beck Depression Inventory.* The Psychological Corporation.
- Benton, A.L. (1983). *Contributions to neuropsychological assessment.* Oxford University Press.
- Benton, A.L. (1983). *Contributions to neuropsychological assessment.* Nueva York: Oxford University Press.

- Bowler, R.M., Mergler, D, Sassine, M-P., Larribe, F. & Hudnell, K. (1999). Neuropsychiatric effects of manganese on mood. *Neurotoxicology*, 20, 367-378.
- Breslow NE, Day NE (1987). *Statistical Methods in Cancer Research. Vol. II, The Design and Analysis of Cohort Studies* (IARC Scientific Publication No. 82). Lyon, France.
- Calne D, Chu N, Huang C, Lu C, Olanow W. (1994). Manganism and idiopathic parkinsonism: similarities and differences. *Neurology*. 44:1583-1586.
- Calne, D.B. (1997). Neurological aspects, imaging and parkinsonian features of manganese neurotoxicity. Abstract of the 15th, International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 11.
- Castellanos J, Uvalle-Bueno J, Aguilar-Santielises A. (2000). *Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas*. Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola (INCAPA), 2a Edición, San Miguel de Allende, Guanajuato, México, pp. 226.
- Chia S, Gan S, Chua L, Foo S, Jeyaratnam J. (1995). Postural stability among manganese exposed. *Neurotoxicology*.16:519-526.
- Chia, S.E., Foo, S.C., Gan, S.L., Jeyaratnam, J. & Tian, CS. (1993). Neurobehavioral functions among workers exposed to manganese ore. *Scand J Environ Health*. 19, 264-270.
- Christensen A. (1987). *El diagnóstico neuropsicológico de Luria*. Visor-libros editores, Madrid, España, pp. 210.
- Chu, N.-S., Huang, C.-C. & Calne, D.B. (1996). Sympathetic skin response and RR interval variation in manganism and a comparison with Parkinson's disease. *Parkinson Related Diseases*. 2, 23-28.

- Cohen D, (1999). Accelerator based ion beam techniques for trace element aerosol analysis. In: Landsberger, Sheldon and Creatchman, Marsha editors. Elemental Analysis of Airborne Particles. Gordon and Breach, Amsterdam, pp. 97-138.
- Cotzias, G.C., Horiuchi, K., Fuenzalida, S. & Mena, I. (1968). Chronic manganese poisoning: Clearance of tissue manganese concentrations with persistence of the neurological picture. *Neurology*, 18, 376-382.
- Couper J. On the effect of black oxide of manganese when inhaled in the lungs. *British Annuary of Medical Pharmacology* 1837; 1:41-42.
- Crossgrove, J. & Zheng, W. (2004). Manganese toxicity upon exposure. *NMR in Biomedicine*. 17, 544-553.
- Crump, K.S. & Rosseau, P. (1999). Results from eleven years of neurological health surveillance at a manganese oxide and salt producing plant. *Neurotoxicology*. 20, 273-286.
- Cruz-Ramírez J, Olvera-Vargas A. (2004). Movilización del Mn por erosión hídrica en el Distrito Minero de Molango, Hidalgo. Bachelors degree Thesis. School of Geography, Universidad Nacional Autónoma de México, México,
- Davidsson, L., Lonnerdall, B., Sandstrom, B. & Krunz, C. (1989). Identification of transferrin as the major plasmatic carrier protein of manganese introduced orally and intravenously or after in vitro addition in the rat. *J. Neurosci*. 119, 1461-1464.
- Dorman, D.C. (1997). The Pharmacokinetics of Manganese Phosphate, a MMT Combustion Product, in rats and Monkeys. Abstract of the 15th, International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 25.
- Eriksson, H., Tedroff, J., Thuomas, K.A., Aquilonus, S.M., Hartvig, P., Fasth, K.J., Bjurling, P., Langstrom, B., Hedstrom, K.G. & Heilbronn, E. (1992). Manganese induced brain

- lesions in *Macaca fascicularis* as revealed by positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Arch Toxicol*, 66, 403-407.
- Fauci, A. Harrison A. (1998). *Principles of internal medicine*. USA: McGraw Hill.
- Finley J. (2004). Does environmental exposure pose a health risk to healthy adults?. *Nut Rev.* 62:148-153.
- Finley, J.W., Johnson, P. E. & Johnson, L. K. (1994). Sex affects manganese absorption and retention by humans from a diet adequate in manganese. *Am J Clin Nutr.*, 60, 949-955.
- Fishman, J.B., Handrahan, J.B., Rubir, J.B., Connor, J.R. & Fine, R.E. (1985). Receptor mediated transcytosis of transferrin across the blood-brain barrier. *J Cell Biol.*, 101, 423A.
- Folstein, M., Folstein S., McHugh P. (1975). Mini-Mental State Examination: A practical method for grading the mental state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.*, 12:189-198.
- Freeland-Graves, Behmardi, F., Bales, C.W., Dougherty, V., Lin P., Crosby, J.B. & Trickett, P.C. (1988). Metabolic balance of manganese in young men consuming diets containing five levels of dietary manganese. *J Nutr.*, 118, 764-773.
- García E. (1975). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen y sus aplicaciones a la República Mexicana. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 246.
- García E. (1990). Clima de México. Hoja a escala 1:4000000. Atlas Nacional de México, Instituto de Geografía Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico,
- Gibbons, R.A., Dixon, S.N., Hallis, K., Russell, A.M., Sanson, B.F. & Symonds, H.W. (1976) Manganese metabolism in cows and goats. *Bioch Biophys Acta.* 44, 1-10.

- Greger, J. L., Cindy, D.D., Suttie, J.W., & Lyle, B.J. (1990). Intake, serum concentrations and urinary excretion of manganese by adult males. *Am J Clin Nutr.*, 51, 457-461.
- Gregus, Z. & Klaassen, C.D. (1986). Dispositions of metals in rats: a comparative study of fecal, urinary and biliary excretion and tissue distribution of eighteen metals. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 85, 24-38.
- Grohse P. (1999). Trace element analysis of airborne particles by atomic absorption spectroscopy, Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy, and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. In: Landsberger S, Creatchman M. *Elemental Analysis of Airborne Particles*. Gordon and Breach, Amsterdam, pp.1-66.
- Hamai, D. & Bondy, S.C. (2004). Oxidative basis of manganese neurotoxicity. *Ann N.Y Acad Sci.* 1012, 129-141.
- Hauser, R. A., Zesiewicz, T. A., Martinez, C., Rosemurgy, A. S. & Olanow, C. W. (1996). Blood manganese correlates with brain magnetic resonance imaging changes in patients with liver diseases. *Can J Neurol Sci.* 23, 95-98.
- He, P., Liu, DH. & Zhang, GQ. (1994). Effects of high level manganese sewage irrigation on children's neurobehavior. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 28(4), 216-218.
- Hill, J.M. & Switzer, R.C. III. (1984). The regional distribution and cellular localization of iron in the rat brain. *Neuroscience.* 11, 595-603.
- Huang, C.-C., Chu, N.-S., Lu, C.-S., Wang, J.-D., Tsai, J.-L., Tzeng, J.-L., Wolters, E.C. & Calne, D.B. (1989). Chronic manganese intoxication. *Arch Neurol.* 46, 1104-1106.
- Hudnell, H. (1999). Effects from environmental Mn exposure: a review of the evidence from non-occupational exposure studies. *Neurotoxicology* 20, 379-398.
- IAEA. (1995) *Manual for QXAS*. International Atomic Energy Agency, Vienna.

- INEGI. (2000). Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Hombres y mujeres de México, México D.F.
- Iregren, A. (1990) Psychological test performance in foundry workers exposed to low levels of manganese. *Neurotoxicol Teratol.*, 12, 673-675.
- Ishihara, N. & Matsushiro, T. (1986). Biliary and urinary excretion of metals in humans. *Archives of Environmental Health*, 41, 300-324.
- Johnson, M.A., Baier, M.J., Greger, J.L. (1982) Effects of dietary tin or zinc, copper, iron, manganese, and magnesium metabolism of adult males. *American J Clin Nutr.* 35, 1332-1338.
- Jurado, S., Villegas, M., Méndez, L., Rodríguez, F., Loperena, V. & Varela, R. (1998). La estandarización del Inventario de Depresión de Beck para los residentes de la ciudad de México. *Salud Mental*, 3, 26-31.
- Kafritsa, Y., Fell, J., Long, S., Bynebelt, M., Taylor, W. & Milla, P. (1998). Long term outcome of brain manganese deposition in patients on home parenteral nutrition. *Arch of Dis Child.* 79, 263-265.
- Keen, CL. (1995). Overview of manganese toxicity, proceedings of the workshop on the bioavailability and oral toxicity of manganese. US EPA, Environmental Criteria and Assesment Office.
- Keenan, F.J. (1997). Occupational and Environmental sources of manganese *exposure*. Abstract of the 15th International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 1.

- Kondakis, X.G., Makris, N., Leotsinidis, M., Prinou M. & Papapetropoulos, T. (1989). Possible health effects of high manganese concentrations in drinking water. *Arch Environ Health*. 44(3), 175-178.
- Landsberger S, Creatchman M. (1999) *Elemental Analysis of Airborne Particles*. Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, pp.1-66.
- Levy B, Nasseta W. (2003) Neurologic Effects of Manganese in humans: A review. *Int J Occup Environ Health*, 9:153-163.
- Lezak, M. (2004). *Neuropsychological assessment*. (4a edición). Nueva York: Oxford University Press.
- Lindsay W, Norvell W. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and Koper. *Soil Sci. Am.*; 42:421-428.
- Lison D., Lardot C., Huaux F., Zanetti G. & Fubini B. (1997). Influence of particle surface area on the toxicity of insoluble dioxide dust. *Arch Toxicol.*, 71, 725-729.
- Lucchini R, Selis L, Folli D, Apostoli P, Mutti A, Vanoni O, Iregren A, Alessio L. (1995). Neurobehavioral effects of manganese in workers from a ferroalloy plant after temporary cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health*. 21:143-149.
- Lucchini, R., Apostoli, P., Perrone, C., Placidi, D., Albini, E., Migliorati, P., Mergler, D., Sassine, M-P., Palmi, S. & Alessio, L. (1999). Long-term exposure to “low levels” of manganese oxides and neurofunctional changes in ferroalloy workers. *Neurotoxicology*. 20, 287-298.
- Luria, A.R. (1980). *Higher cortical functions in man*. (2a edición). Nueva York: Basic Books.

- Lynam, D.R., Roos, J.W., Pfeiffer, G.D., Fort, B.F. & Pullin, T.G. (1999). Environmental effects and exposures to manganese from use of methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl (MMT) in gasoline. *Neurotoxicology*, 20, 145-150.
- Mena I, Marin O, Fuenzalida S, Cotzias G. (1967). Chronic manganese poisoning. *Neurology*. 17:128-136.
- Mena, I. (1979). Manganese poisoning. En: Vinken, P.J., & Bruyn G.W. *Handbook of Clinical Neurology*. North Holland Publishing, Amsterdam, 36, 217-227.
- Mena, I., Marin, O., Fuenzalida, S. & Cotzias, G., (1987). Chronic manganese poisoning. *Neurology*. 17, 128-136.
- Mena, I., Noriuchi, K., Burke, K. & Cotzias G.C. (1969). Chronic manganese poisoning: individual susceptibility and absorption of iron. *Neurology*, 1969; 19, 1000-1006.
- Mergler D, Baldwin M, Bélanger S, Larribe F, Beuter A, Bowler R, Panisset M, Edwards R, Geoffroy A, Sassine M, Hudnell K. (1999). Manganese neurotoxicity: A continuum of dysfunction: results from a community based study. *Neurotoxicology*. 20:327-342.
- Mergler D, Baldwin M. (1997). Early manifestations of manganese neurotoxicity in humans: an update. *Environ Res.*, 73:92-100.
- Mergler D, Huel G, Bowler R, Iregren A, Belanger S, Baldwin M, Tardif R, Smargiassi A, Martin L. (1994). Nervous system dysfunction among workers with long-term exposure to manganese. *Environ Res*. 64:151-180.
- Miller D, Paschal D, Gunter E, Stroud P, D'angelo J. (1987). Determination of lead in blood using electrothermal atomization atomic absorption spectrometry with L'vov platform and matrix modifier. *Analyst*. 112:1701-1704.

- Miranda J, Rodríguez-Fernández L, De Lucio O, López K, Harada J. (2000). A New Beamline for Characteristic X-ray Experiments at the Pelletron Accelerator. *Rev Mex Fis.* 46:367-372.
- Montes S., Alcaraz-Zubeldía M., Muriel P., Rios C. (2003). Role of manganese accumulation in increased brain glutamina of the cirrhotic rat. *Neurochem Res.* 28:911-917.
- Nelson, K., Golnick, J., Korn, T. & Angle C. (1993). Manganese encephalopathy: utility of early magnetic resonance imaging. *Br J Ind Med.*, 50, 510-513.
- Newland M. (1999). Animal models of manganese's neurotoxicity. *NeuroToxicology.* 20:415-430.
- Nieoullon, A. (2002). Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Prog Neurobiol.*, 67, 53-83.
- Norma Oficial Mexicana (1994). nom-127-ssa1, salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, México.
- Normandin L, Ann Beaupre L, Salehi F, St-Pierre A, Kennedy G, Mergler D, Butterworth R, Philippe S, Zayed J. Manganese distribution in the brain and neurobehavioral changes following inhalation exposure of rats to the three chemical forms of manganese. *Neurotoxicology* 2004; 25:433-441.
- Olanow, C.W. (1997). Manganese and Liver Disease. Abstract of the 15th, International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 17.
- Ostrosky F, Quintanar L, Ardila A. (1989). Detection of brain damage: neuropsychological assessment in a Spanish speaking population. *Int J Neurosc.* 49:141-149.

- Ostrosky-Solís, F., Ardila, A. & Rosseelli, M. (1999). NEUROPSI: A brief neuropsychological test battery in *spanish* with norms by age and educational level. *Int J Neurosc.*, 5, 413-433.
- Ostrosky-Solís, F., Ardila, A., Rosselli, M., Lopez-Arango, G., Uriel-Mendoza, V. (1998). Neuropsychological test performance in illiterate subjects. *Arch Clin Neuropsych.* 13, 645-660.
- Ostrosky-Solís, F., Canseco, E., Quintanar L., Navarro E., Meneses S. & Ardila, A. (1989). Sociocultural effects in neuropsychological assessment. *Int J Neurosci.*, 27, 53-66.
- Pal, P.K., Samii, A. & Calne, D.B. (1999). Manganese neurotoxicity: review of clinical features, imaging and pathology. *Neurotoxicology*, 20, 227-238.
- Patridge, W.M., Eisenberg, J., Yang, J. (1987). Human blood brain barrier transferrin receptor. *Metabolism.* 36, 892-895.
- Peña-Casanova, J. (1991). Programa integrado de exploración neuropsicológica “Test Barcelona”. Barcelona: Masson.
- Peters, J., Rushton, L., Jones, D., Sutton, A., Mugglestone, M. & Abrams, K. (2003). Recommendations for systematic review and statistical synthesis in standard-setting: an evaluation of manganese review documents: ISEE-269. *Epidemiology*, 14, S52.
- Pleban A, Pearson K. (1979). Determination of manganese in whole blood and serum. *Clin Chem.* 25: 1915-1918.
- Pramod, P., Samii A. & Calne, D. (1999). Manganese neurotoxicity: a review of clinical features, imaging and pathology. *Neurotoxicology.* 20, 227-238.
- Prohaska, J.R. (1987). Function of trace elements in brain metabolism. *Phys Rev.* 67, 858-901.

- Reinmann C, Caritat P. 1998. Chemical elements in the environment. Springer Verlag, Germany, pp. 198-201.
- Rektor, J., Bares, M., Brazdil, M., Kanovsky, P., Rektorova, I., Sochurkova, D., Kubova, D., Kuba, R. & Daniel, P. (2005). Cognitive-and movement-related potentials recorded in the human basal ganglia. *Mov Disorders.*, 20, 562-568.
- Restrepo I. (1994). Evaluación técnica, ambiental, de salud y socioeconómica de cinco municipios del estado de Hidalgo. Centro de Ecología y Desarrollo AC, México.
- Reyes, S., Beaman, P., García-Peña, C., Villa, M., Heres, J., Córdova, A. & Jagger, C. (2004). Validation of a modified versión of the Mini-Mental State Examination (MMSE) in spanish. *Aging Neuropsychology and Cognition*, 11, 1-11.
- Riojas-Rodríguez, H. (2004). Impacto en la salud del ecosistema por actividades antropogénicas en una cuenca manganesífera. Instituto de Salud, Ambiente y Trabajo. Instituto Nacional de Salud Pública.
- Rodier, J. (1955). Manganese poisoning in Moroccan miners. *Br J Ind Med.*, 12, 21-35.
- Rodríguez-Agudelo, Y., Riojas-Rodríguez, H., Ríos, C., Rosas, I., Sabido, E., Miranda, J., Texcalac, J.L. & Santos-Burgoa, C. (2006). Motor alterations associated to environmental exposure to manganese in Mexico. *Sci Total Environ.*, 368;542-556.
- Roels H., Lauwerys, R., Buchet, J.-P., Genet, P., Sarhan, M.J., Hanotiau, I., de Fayes, M., Bernard, A. & Stanescu, D. (1987). Epidemiological survey among workers exposed to manganese: effects on lung, central nervous system, and some biological indicators. *Am J Ind Med.*, 11, 307-327.

- Roels, H., Ghyselen, P., Buchet, J.P., Ceulemans, E. & Lauwerys, R.R. (1992). Assessment of the permissible exposure level to manganese in workers exposed to manganese dioxide dust. *Br J Ind Med.*, 49, 25-34.
- Roels, H., Ortega-Eslava, M.A., Robert, A. & Ceulemans, D. (1997). Reversibility of subclinical neurotoxic effects in a cohort of workers exposed to manganese dioxide. Abstract of the 15th International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 13.
- Rojas-López M, Ríos C, Santos-Burgoa C. (1994). The use of lead-glazed ceramics is the main factor associated to high lead levels. *J Toxicol Environ Health*; 42:45-52.
- Santos-Burgoa C, Ríos C, Mercado L, Arechiga-Serrano R, Cano-Valle F, Eden-Wynter R, Texcalac-Sangrador J, Villa-Barragán J, Rodríguez-Agudelo Y, Montes S. (2001). Exposure to manganese: health effects on the general population, a pilot study in central México. *Environ Res*; 85:90-104.
- Saric, M., Markicevic, A. & Hrustic O. (1977). Occupational exposure to manganese. *Br J Ind Med.*, 34, 114-118.
- Schuler P., Oyanguren, H., Maturana, V., Valenzuela, A., Cruz, E., Plaza, V., Schmidt, E. & Haddad, R. (1957). Manganese poisoning. *Industrial medicine surgery*, Abril, 167-173.
- Siebe, Ch., R. Jahn & K. Stahr. Manual para la descripción y evaluación ecológica de suelos en el campo *Serie de Publicaciones Especiales de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo* No. 4, pp. 57. 1996.
- Sjogren, B., Gustavsson, H. & Hogstedt, C. (1990). Neuropsychiatric symptoms among welders exposed to neurotoxic metals. *Br J Ind Med.*, 47, 704-707.

- Sloot, W.N. & Gramsbergen, J.B. (1994). Axonal transport of manganese and its relevance to selective neurotoxicity in the rat basal ganglia. *Brain Res.*, 657, 124-132.
- Smargiassi A, Mutti A. Peripheral biomarkers and exposure to manganese. *Neurotoxicology* 1999;20:401-406.
- Smargiassi, A. & Mutti, A. (1997) Peripheral biomarkers and exposures to manganese. Abstract of the 15th, International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 14.
- Smyth, L.T., Ruhf, R.C., Whitman, N.E. & Durgan, T. (1973). Clinical manganism and exposure to manganese in the production and processing of ferromanganese alloy. *Occidental Medicine*, 15, 101-109.
- Spurny R. *Analytical Chemistry of Aerosols*. Chemical Rubber Company Press, Boca Raton, Florida, USA, 1999.
- Takeda A, (2003). Manganese action in brain function. *Brain Res. Rev.* 41:79-871.
- Tanaka, S. & Lieben, J. (1969). Manganese poisoning and exposure in Pennsylvania. *Arch Environ Health.* 19, 674-684.
- Tjälve H, Henriksson J. Uptake of Metals in the brain via olfactory pathways. *Neurotoxicology* 1999; 20:181-196.
- Tjalve, H. & Henrikson, J. (1997). Manganese uptake in the brain via olfactory pathways. Abstract of the 15th, International Neurotoxicology Conference, Little Rock, Arkansas, pp 10.
- Tjalve, H. & Henrikson, J. (1999). Uptake of metals in the brain via olfactory pathways. *Neurotoxicology*, 20, 181-196.

- Underwood, E.J. (1977). Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press, New York, pp 13-53.
- US. EPA. (United States Environmental Protection Agency). (1997). Manganese, integrated risk information system (IRIS) Substance File. Office of Health and Environmental Assessment, Cincinnati, OH.
- Wennberg A, Hagman M, Johansson L. Preclinical neurophysiological signs of parkinsonism in occupational manganese exposure. *Neurotoxicology* 1992; 13: 271-274.
- Wedler F., Ley B., Grippo A. (1989). Glutamine Synthetase: the major Manganese II enzyme in mammalian brain. *Neurochem. Res.* 14:1129-1135.
- Wennberg, A., Iregren, A., Struwe, G., Cizinsky, G., Hagman, M. & Johansson, L. (1991). Manganese exposure in steel smelters: A health hazard to the nervous system. *Scand J Work Environ Health*, 17, 255-262.
- World Health Organization, (Organización Mundial de la Salud). (1981). Manganese Environmental Health Criteria. Geneva, 1-110.
- Yesavage, J.A., Brink, T.L., Rose, T.L., Lum, O., Huang, V., Adey, M.B. & Leirer, V.O. (1983). Development and validation of a geriatric depression rating scale: a preliminary report. *J Psych Res.* 17, 37-49.
- Zartner-Nylas. (2002). Grenzwerte: Kennzahlen zur Umweltbelastung in Deutschland und in der EG. Landesanstalt für Umweltschutz Baden Württemberg. ECOMED, Karlsruhe, Germany. 391 pp.

X. ANEXOS

Motor alterations associated with exposure to manganese in the environment in Mexico

Yaneth Rodríguez-Agudelo ^{a,b}, Horacio Riojas-Rodríguez ^{c,d,*}, Camilo Ríos ^a,
Irma Rosas ^e, Eva Sabido Pedraza ^c, Javier Miranda ^f, Christina Siebe ^g,
José Luis Texcalac ^c, Carlos Santos-Burgoa ^h

^a Instituto Nacional de Neurología and Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Mexico

^b Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Mexico

^c Instituto de Salud del Ambiente y Trabajo, ISAT, Mexico

^d Instituto Nacional de Salud Pública, INSP, Mexico

^e Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, México

^f Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, México

^g Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, México

^h Dirección General de Planeación y Desarrollo en Salud, Secretaría de Salud, México

Received 21 October 2005; received in revised form 20 January 2006; accepted 16 March 2006

Available online 21 June 2006

Abstract

Overexposure to manganese (Mn) causes neurotoxicity (a Parkinson-like syndrome) or psychiatric damage (“manganese madness”). Several studies have shown alterations to motor and neural behavior associated with exposure to Mn in the workplace. However, there are few studies on the effects of environmental exposure of whole populations. We studied the risk of motor alterations in people living in a mining district in Mexico. We studied 288 individual people (168 women and 120 men) from eight communities at various distances from manganese extraction or processing facilities in the district of Molango. We measured manganese concentrations in airborne particles, water, soil and crops and evaluated the possible routes of Mn exposure. We also took samples of people’s blood and determined their concentrations of Mn and lead (Pb). We used “Esquema de Diagnóstico Neuropsicológico” Ardila and Ostrosky-Solís’s neuropsychological battery to evaluate motor functions. Concentrations of Mn in drinking water and maize grain were less than detection limits at most sampling sites. Manganese extractable by DTPA in soils ranged between 6 and 280 mg kg⁻¹ and means were largest close to Mn extraction or processing facilities. Air Mn concentration ranged between 0.003 and 5.86 µg/m³; the mean value was 0.42 µg/m³ and median was 0.10 µg/m³, the average value (geometric mean) resulted to be 0.13 µg/m³. Mean blood manganese concentration was 10.16 µg/l, and geometric mean 9.44 µg/l, ranged between 5.0 and 31.0 µg/l. We found no association between concentrations of Mn in blood and motor tests. There was a statistically significant association between Mn concentrations in air and motor tests that assessed the coordination of two movements (OR 3.69; 95% CI 0.9, 15.13) and position changes in hand movements (OR 3.09; CI 95% 1.07, 8.92). An association with tests evaluating conflictive reactions (task that explores verbal regulations of movements) was also found (OR 2.30; CI 95% 1.00, 5.28). It seems from our results that people living

* Corresponding author. Instituto Nacional de Salud Pública. Av. Universidad No. 655, Col. Santa María Ahuacatitlán, C.P. 62508. Cuernavaca Morelos, Mexico. Tel.: +52 77 73 29 30 00x3303; fax: +52 77 71 01 29 37.

E-mail addresses: hriojas@correo.insp.mx, hriojas@prodigy.net.mx (H. Riojas-Rodríguez).

close to the manganese mines and processing plants suffer from an incipient motor deficit, as a result of their inhaling manganese-rich dust.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Manganese; Environment exposure; Motor alterations; Neurotoxicity

1. Introduction

Mexico is the second Latin-American manganese (Mn) producer, and occupies the fifth place worldwide. Mn is an important metal used to produce steel and other metal derivatives. Central Mexico has one of the largest manganese ore reserves, with 32 million proven tons, mainly of manganese dioxide. Its commercial extraction was started in 1962. The population living in the agricultural communities within this mining district is very stable and has suffered lifetime exposure to naturally and anthropogenic released manganese. Nowadays, extraction is performed through both strip and underground mining, and primary refining is done on site (Restrepo, 1994).

Small concentrations of Mn, an essential trace element, are found in the human body; however, overexposure leads to toxicity (Mergler and Baldwin, 1997). The toxic effects of Mn inhalation, characterized by extra-pyramidal alterations and neuropsychiatric disturbances resembling Parkinson's disease (Mena et al., 1967), were early described by Couper (1837). The most important health effects of Mn exposure are cognitive, motor and sensory alterations (Mergler and Baldwin, 1997; Hudnell, 1999).

Several literature reviews have concluded that occupational exposure to relatively high levels of airborne manganese can cause neurotoxicity. Symptoms are similar to Parkinson's disease and progression continues after exposure ceases (Mergler and Baldwin, 1997; Davis, 1998; Mergler et al., 1999; ATSDR, 2000).

Manganese neurotoxicity targets the central nervous system (CNS), particularly the basal ganglia. Evidence suggests that astrocytes are a site of early dysfunction (Aschner, 2000) and damage; chronic exposure to manganese leads to selective dopaminergic dysfunction, neuronal loss, and gliosis in basal ganglia structures (Normandin et al., 2004).

It is well known that inhalation of toxic amounts of Mn (e.g. >1.0 mg/day) can affect neuropsychological function (Finley, 2004). Subtle nervous system deficits consistent with Mn activity in the brain were observed in adults environmentally exposed to Mn (Mergler et al., 1999).

Several authors (Tjälve and Henriksson, 1999; Mergler et al., 1999; Krachler et al., 1999) have pointed out that the most hazardous route of Mn exposure is airborne. Inhaled Mn may enter the central nervous system (CNS) directly with three orders of magnitude, as compared to the oral route (Andersen et al., 1997) and absorption is 10 times greater. Its half life in the CNS after exposure is 50 days. Olfactory Mn crosses the blood–brain barrier. When it comes in contact with the olfactory mucosa, Mn is transported to the olfactory bulb. These studies of manganese's neurotoxicity have been conducted with primate and rodents species. The exact CNS transportation mechanism is not well known. Because iron deficiency after Mn exposure, iron transporting enzyme, transferrin, may have an important role; this hypothesis is supported by the metal's preferential deposition in CNS areas with a large quantity of transferrin receptors, such as the striatum (Aschner and Aschner, 1991). Mn ionic properties are similar to calcium's, which may confer a mimetic ability and facilitate axon transport. Mn has been observed in efferent zones of secondary neurons of the olfactory tract (Andersen et al., 1997).

Several studies have reported motor disorders as starting symptoms related to Mn toxicity. Mergler and Baldwin (1997) observed that in non-occupational exposure, prevalence of reduced hand steadiness was significantly higher among individuals with large manganese concentrations in their blood. More recently, research efforts into the molecular details of Mn toxicity have provided evidence of an etiological relationship between oxidative stress and manganese-related neurodegeneration (HaMai and Bondy, 2004).

Occupational exposure concentrations are generally larger than environmental ones, but they are intermittent, whereas environmental exposure is more continuous, compared to occupational, covers 24 h a day and involves more sensitive subgroups such as children, elderly, subjects with liver illnesses and anemic condition (Hudnell, 1999). There are few reports of environmental exposure to sources of Mn other than a Mn-emitting industry. The purpose of this study was to assess motor alterations in a non occupational Mn

exposed human population from Hidalgo State, Mexico. We selected a battery of tests adapted for Mexican rural conditions (Ostrosky et al., 1989) that could be applied on site reliably and practically.

1.1. Study site and description

The Molango mining district is located within the Sierra Madre Oriental, in a highly dissected mountain

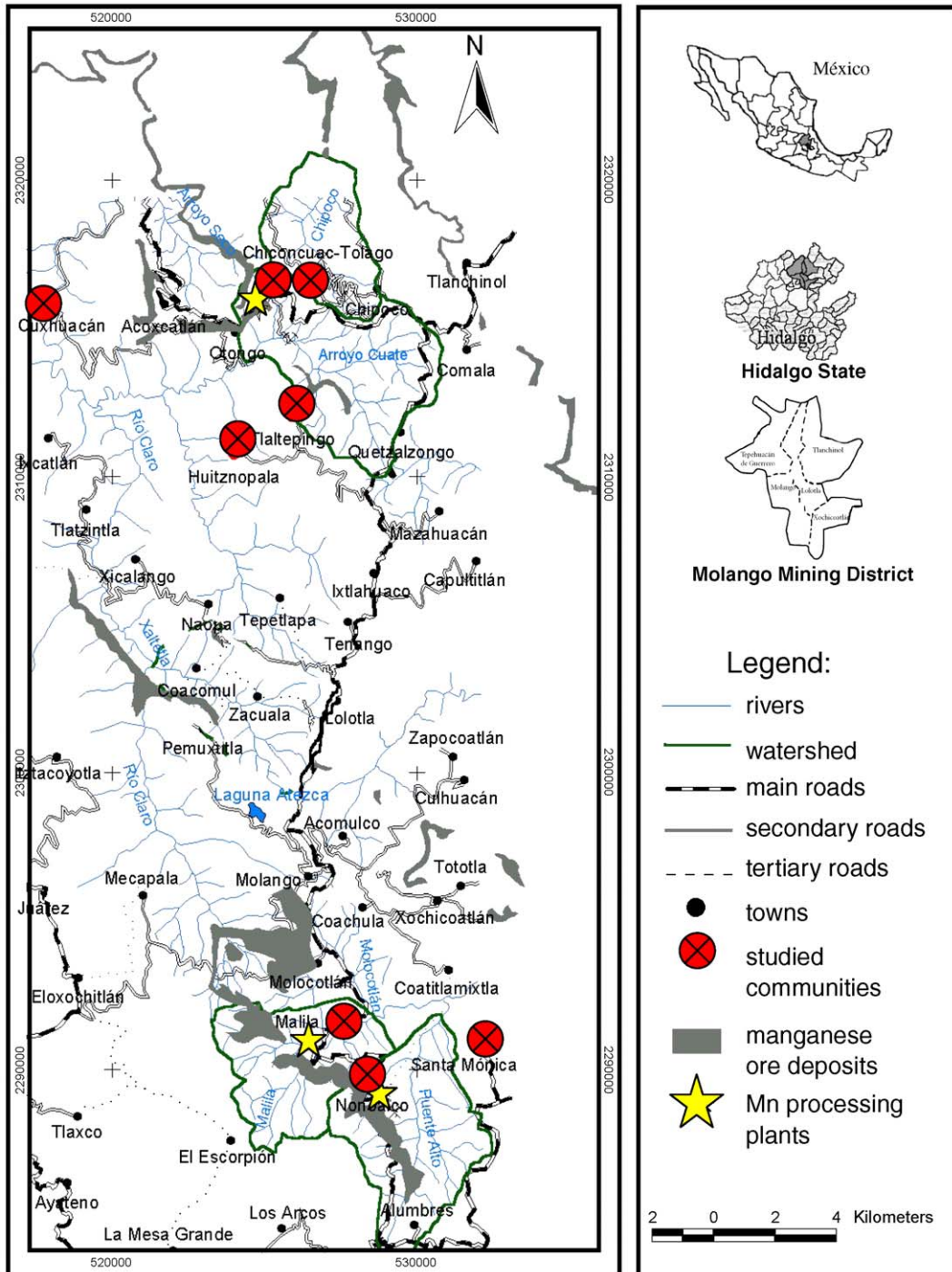


Fig. 1. Molango Mining District. Manganese ore outcrops and the locations of the processing plants.

area covering an altitudinal range between 600 and 2600 m (8.500 ft) over sea level. This is a region with natural barriers such as elevated mountains. In some cases, although the houses are near the plants, they are protected by these natural barriers. The Molango district of Hidalgo State has an area of 180 km²; it is populated by 127,401 inhabitants (INEGI, 2000). The manganese ore deposit is a well defined facies within the upper Jurassic “Chipoco” formation. It was formed in a deep marine environment that folded and lifted during the laramidean orogenesis. It consists of black and gray microcrystalline marly limestones enriched with organic matter, which alternate with calcaric claystones impregnated with chalcopyrite and manganese minerals. Predominant manganese minerals are rhodocrosite (manganese carbonate) in the deeper layers of the deposits, and pyrolusite (manganese dioxide) in the upper layers (Alexandri and Martínez, 1988). Rhodocrosite is mined in the northern and central part of the district and processed to manganese monoxide pellets at the Otongo processing plant. At Malila and Nonoalco pyrolusite is mined, concentrated gravimetrically and sold to producers of batteries and concentrates for animal feed.

Fig. 1 shows manganese ore outcrops and the locations of the processing plants. The northern part of the area (Otongo, Chinconcuac, Tolago) has an A (C) fm climate, and is warm and humid during the whole year. The mean annual temperature varies between 20 and 24 °C and accumulated annual precipitation oscillates between 2000 and 3000 mm. The southern part (Nonoalco and Malila) of the district is less humid; it has a Cm climate type, and is temperate, humid with summer rains. Mean annual temperature is 16 to 20 °C, and mean annual precipitation varies from 1200 to 1500 mm (García, 1975, 1990). Only three meteorological stations exist in the study area, but they have no records on wind speeds nor velocities.

Natural vegetation is pine and oak forests at the highest elevations, and mountain cloud forests on steep slopes that end with tropical rain forest at lower elevations. Land use is dominantly rain fed agriculture (maize) and extensive pasture lands. Important land use changes have occurred during the last 3 decades, in which 18% of the natural forest area has been converted

Table 2

Selected communities, their exposure to either anthropogenic or natural manganese sources and distance to the closest manganese processing facility or mining site

Community	Mn exposure sources	Distance (km)
Nonoalco	Mn concentration plant Nonoalco, mine waste deposits, open air mining sites, natural pyrolusite outcrops	<1
Malila	Mn concentration plant Malila, mine waste deposits, open air mining sites, natural pyrolusite outcrops	1–2
Chinconcuac	Pellet plant Otongo, Tetzintla strip mine, natural rhodocrosite outcrops	1.3
Tolago	Pellet plant Otongo, Tetzintla strip mine, natural rhodocrosite outcrops	1.8
Tlaltepingo	Natural rhodocrosite outcrops and long distance transport of emissions from the Pellet plant Otongo	4.5
Huitznopala	Natural rhodocrosite outcrops	5.7
Cuxhuacán	None	7.4
Sta. Mónica	None	10.5

to agriculture and pasture land (Cruz-Ramírez and Olvera-Vargas, 2004).

1.2. Manganese historic and annual production

In 1998 the Environmental Ministry enforced regulations and filters were installed at the Otongo plant, diminishing its emissions. However, to estimate life-long exposure, it has to be considered that the emissions before 1998 were probably much larger than there after (Table 1).

Mn production increased in 2003 and Mn carbonate sales doubled those of 2002. Ferroalloys sales also increased 21% (INEGI, 2004).

2. Materials and methods

2.1. Population study and population sample

Eight communities were selected for the study (Fig. 1 and Table 2). Five are located in the northern part of the district and three in the southern part. Selection criteria

Table 1

Volume (tons) of mining and metallurgic manganese production in Mexico 1994–2003

Product	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Mn* (tons)	91.272	140.661	173.380	192.825	187.103	169.107	156.117	99.751	88.358	114.550

Note: These include extraction, benefit, smelting and refining activities (INEGI, 2004).

* Metallic content.

included exposure to manganese extraction or processing activities (Chiconcuac and Tolago in the North, and Malila and Nonoalco in the South), or to natural outcrops of manganese rich rocks (Tlaltepingo, Huitznopala). Two communities are located in areas with no natural or anthropogenic manganese sources (Cuxhuacán in the North and Santa Mónica in the South). Table 2 shows the distances between each community and the nearest manganese extraction or processing facility. Santa Mónica and Huitznopala are in different watersheds than the processing facilities and therefore separated from them by a mountain range. Tlaltepingo and Cuxhuacán are small localities within the same watershed as the Otongo processing facility, although they are in different microbasins; Tlaltepingo is located upstream, and on the opposite mountain range than the Otongo plant and Cuxhuacán is more than 7 km downstream from any anthropogenic manganese extraction or processing facility and natural Mn outcrop.

Since no data exist on local wind directions nor velocities, it is difficult to give any statement on airborne particle transport exposure of the different localities.

Three hundred people from these communities took part in the study; 288 individuals completed the neuropsychological tests. Population sample was designed to be representative of both gender and formed by a proportional sample of three age groups (20–35 years; 35–60 years; and older than 60 years). A participation criterion was that they had lived in the region at least during the past 5 years. We searched for families living in different areas within each community using field validated community sketches drawn by health institutions.

The sample was selected according to the following criteria:

1. A random selection of homes was made, trying to have each zone represented proportionally within the community.
2. We visited these homes in order to select the subjects according to the mentioned age and gender criteria, and to get a list of the possible participants in the study.
3. The list we made was compared with the data of the local census to get a final list of the subjects who participated in the study.

Miners and ex-mine workers were excluded from the study, as were those with psychiatric diseases and other health illnesses such as diabetes and severe liver diseases.

Participation rate was 88.6%, ranging from 70% and 100% in the different communities. Gender participation rates were 96.5% for women and 79.5% for men.

The size of the population sample for this study was estimated trying to find relative risks ≥ 1.5 for neuropsychological effects and comparing populations with less and more exposure, taking as reference the prevalence values found in the pilot study (Santos-Burgoa et al., 2001).

All participants were informed of this study and signed a consent agreement before answering a questionnaire to assess their socio-economical status and house conditions. The questionnaires included household characteristics (building materials, location regarding roads, public services, ventilation) economic conditions (occupation, income), nutritional and personal habits (smoking, alcohol consumption).

2.2. Environmental samples

2.2.1. Water, soil, and crop samples

In order to assess general differences in manganese exposure between the eight selected communities, we sampled the drinking water sources, soil of selected agricultural fields and leaves of their main crops (maize and grass). At each community we sampled the drinking water storage tank, which is controlled by the local health authorities, as well as the existing natural springs. Each community has one drinking water tank, which receives water from a spring located uphill of any human settlement. We took samples at the beginning and at the end of the dry season, and during the rainy season of 2002. A total of 102 water samples were analyzed.

We also took samples of surface soils (0–20 cm depth) and either maize or grass leaves grown on them. We chose three to ten fields at random per community and in each field; we took 12 soil cores and 12 leaf samples which we mixed to get composite samples. A total of 47 soil samples, 30 grass samples and 17 maize leaf samples were collected. Additionally, we collected maize corn samples of 4 households belonging to persons whose blood was sampled in two of the most exposed communities (Chiconcuac and Tolago).

The reported water and soil and crop Mn concentrations are attributable to each community, but not to individuals participating in the survey.

Water samples were filtered immediately through 0.45 μm MILLIPORE membrane filters into VACU-TAINERS and stored at 4 °C until analysis. Soil samples were air dried, sieved (<2 mm), and extracted with DTPA according to Lindsay and Norvell (1978).

Manganese was determined with a PERKIN ELMER 3110 atomic absorption spectrometer in an air/acetylene flame. Leaf samples were washed immediately after sampling, dried at 65 °C, ground (<0.1 mm) and pressed to tablets adding C-wax (relation 10:1 wt/wt). Mn was determined by X-ray fluorescence (Siemens SRS 3000). The calibration curve was made out of 5 certified international plant tissue reference materials, which were prepared in the same way as the samples. Maize corn samples were digested in a microwave oven with concentrated nitric acid and Mn was determined by atomic absorption spectroscopy.

2.2.2. Mine waste samples

The different mine waste deposits in the study area were sampled in order to assess their Mn concentrations. These materials are dumped either downslope of the Otongo processing facility, or in tailing dams (Nonoalco and Malila) and are prone to water and wind erosion. They are an important anthropogenic Mn source and therefore we took composite samples from 0 to 20 cm depth from the different deposits. Samples were air dried, sieved (<2 mm), ground (<0.1 mm) and pressed to tablets adding C-wax (10:1). Total Mn was determined by X-ray fluorescence analysis (Siemens SRS 3000).

2.2.3. Air samples

Air concentrations of Mn were monitored according to the procedures for environmental sampling published by ATSDR (ATSDR, 1997). Universal flow pumps SKC, model 224-PCXR8 were connected to personal environmental monitors (PEM) model 200 (MSP Corp.) Teflon filters were employed for assessment of PM₁₀ and Mn air concentrations. Twenty eight houses were randomly selected for monitor placement, and the values obtained from the closest monitor were assigned to each of the 288 participants. The monitoring sessions were performed between April and June 2002.

Mn contents in the filters were measured using PIXE (Protons Induced X-ray Emission), with a 2.2 MeV proton beam produced by the 9SDH-2 Pelletron accelerator (National Electrostatics Corporation, Middleton, WI, USA) at the Physics Institute, National Autonomous University of Mexico. The irradiation chamber is described in the work by Miranda et al. (2000). A hyperpure germanium detector, LEGe type (Canberra Industries, Meriden, CT, USA), with a resolution of 150 eV at 5.9 keV was used, connected to a Canberra 2026 amplifier. A PCA3 Oxford Instruments multichannel analyzer add-on board (Oxford Industries-Tennelec, Oak Ridge, TN, USA),

attached to a personal computer collected the X-ray spectra. These were analyzed by means of the Quantitative X-ray Analysis System (QXAS) computer code (IAEA, 1995).

The detection system response was measured using thin film MicroMatter standards (Deer Harbor, WA, USA). A determination of the accuracy for PIXE analyses was performed using a different set of MicroMatter standards, resulting in an error no larger than 0.7% for the elements detected in this study.

The use of PIXE for elemental analysis has several advantages. First, with this technique it is unnecessary to pre-concentrate the sample, as is the case of methods such as Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) and Inductively Coupled Plasma, either Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) or Mass Spectrometry (ICP-MS). Second, minimum detection limits for Mn are only slightly higher than those provided by certain variants of AAS or ICP-AES (Landsberger and Creatchman, 1999), namely, of the order of 1 ng/m³ of the element in air. Third, PIXE is a fast, multi-elemental and non-destructive technique, so further analytical methods can be applied to the same sample. PIXE is strongly recommended for these kind of studies (IAEA, 1995). There have been numerous round robin comparisons of PIXE with other analytical methods (such as neutron activation analysis, ICP-MS or ion chromatography), with favorable results (Cohen, 1999; Spurny, 1999). Furthermore, it is necessary to stress that the use of AAS for atmospheric aerosols analyses was not convenient because it requires very large amounts of sampled material (Grohse, 1999), which were not available in this study.

2.3. Analyses of lead and manganese in blood

Individual blood samples of 5 ml were obtained and used for Mn and Pb determination. The samples were taken early in the morning, before breakfast and refrigerated before being transported. They were sent to the biochemistry laboratory at the National Institute of Neurology to be analyzed.

Blood samples were taken twice for the manganese determination. One of these samples was taken in 2002 and the other in 2003, in the same season. Both lead and manganese in blood were analyzed with a graphite furnace atomic absorption spectrometer (GFAAS), according to the techniques reported by Miller et al. (1987) and Pleban and Pearson (1979). A Perkin-Elmer 3110 atomic absorption spectrometer and an HGA-600 graphite furnace with AS-60 auto-sampler were used (NBS-3128, NBS Gaithersburg, MD). Manganese curves

were constructed with Merck Tritrisol standard solution. Quality control for lead analysis was assessed by our current participation in the Lead Wisconsin State Laboratory of Hygiene Proficiency Program.

Analysis of manganese was assured by measuring a biological matrix-based reference material (Bovine Liver from the National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD). A couple of external standards were prepared by digesting this material with different concentrations of manganese, 2.5 and 10 ppb. Manganese concentrations of external standards were measured along with blood sample analyses. A 95% confidence interval for mean manganese in the reference material was employed to determine if blood samples were within the limits of quality control.

2.4. Neuropsychological evaluation

Motor function was evaluated by means of “Esquema de Diagnóstico neuropsicológico” (Ardila and Ostrosky-Solis, 1991), which is an adaptation of Luria’s diagnostic procedures. These types of tasks have been used in other studies to evaluate neuromotor effects on Mn exposed population (Mergler et al., 1994). The battery we used was properly translated to Spanish and validated in Mexican population (Ostrosky et al., 1989). This test includes motor tasks that assess speed and coordination with one hand (applied bilaterally), kinesthetically-based motor abilities, ability to imitate motor movement following a visual cue, simple and complex verbal control, intellectual–imaginative motor aptitude, oral movements, quality of drawing reproduction, symbolic actions, conflictive reactions and choice reactions. Each item is evaluated according to one or more criteria as described in the manual (Ardila and Ostrosky-Solis, 1991) and it does not try to determine only if the task is done or not, but how it is performed, what kind of mistakes are made and not register reaction time for each item.

The battery included 41 items and the performance in each of them received the following score: 0, within the normal range; (adequate performance); 1, moderate impairment (regular performance); and 2, severe impairment (impossible performance). This kind of assessment was used by Luria (1975) and later adopted by Golden (1981). The whole battery test was completed in about one hour per subject.

2.5. Statistical analysis

The data base was constructed with the file of each subject as key field. The file contained information

obtained through questionnaires, blood sample results, air monitoring and motor tests.

We obtained the descriptive statistics of socioeconomic conditions for each community and the summary statistics for main exposure variables. We compared blood manganese concentrations between communities using *t*-test.

Since the neuromotor tests have three possible outcomes (normal, mild and severe damage) we used logistic regression methods (dichotomous, polytomous and ordinal). We also tested the possibility to use multilevel models, but the data did not fulfill the assumption of variance into the groups (site of monitoring).

We performed a bivariate analysis looking for association of poor performance of the tasks with different factors: alcoholism, gender, age, socioeconomic status, blood lead, scholarship. When the association presented a significance value of $p < 0.1$, it was included in the multiple logistic regression model. These models were applied using maximum likelihood tests, by means of the software package Stata 8. Different approaches were used to study the association between the risk of poor test performance and air manganese concentrations. These included models of logistic multiple regression with two cutting points for air exposure ($0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ represents the EPA recommendation as reference concentration for non-occupationally exposed population, U.S.A EPA, 1984 and $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ represents the median in this population). The first method considered measurements in each monitor and their corresponding individuals and medians were obtained. Then, exposures were divided in median above and below $0.05 \mu\text{g}/\text{m}^3$. The second method used the same procedure but the cutting point was located in medians above or below $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Another way to evaluate this association was using a cumulative exposure index calculated using the median of the concentrations of each monitor and multiplying it by the number of years that each person had lived in the community. Finally, this index was divided in quartiles. The first and last quartiles were compared.

3. Results

3.1. Description of the population

Initial number of recruited subjects was 300 and the final number of participant was of 288 subjects, 168 were women and 120 men. Socioeconomic data (age, education level, years of residency in the community and occupation), are shown in Table 3. In general, this

Table 3
Socioeconomic data per community

Community	Age (mean, s.d.)	Education (years) (mean, s.d.)	Years living in the community (years) (mean, s.d.)	Gender (n, %)		Occupation (n, %)			
				Women	Men	Bricklayer (%)	Peasant (%)	Housewife (%)	Other (%)
Nonoalco	39.3 (14.1)	6.2 (3.4)	33.8 (17.0)	32 (64.0)	18 (36.0)		10 (20.0)	17 (34.0)	22 (44.0)
Malila	48.3 (16.9)	4.9 (3.6)	42.3 (22.4)	21 (65.6)	11 (34.4)		6 (18.8)	17 (53.1)	9 (28.1)
Chiconcoac	45.8 (17.3)	4.0 (3.9)	40.1 (21.8)	21 (52.5)	19 (47.5)	2 (5.0)	13 (32.5)	20 (50.0)	5 (12.5)
Tolago	47.1 (16.0)	3.1 (3.2)	40.2 (20.5)	22 (59.5)	15 (40.5)	2 (5.4)	12 (32.4)	22 (59.5)	1 (2.7)
Tlaltepingo	47.8 (19.3)	3.2 (3.1)	38.3 (23.0)	12 (60.0)	8 (40.0)		10 (50)	9 (45.0)	1 (5.0)
Huitznopala	43.7 (15.1)	5.1 (3.7)	36.0 (22.2)	17 (68.0)	8 (32.0)		6 (24.0)	15 (60.0)	3 (12)
Cuxhuacán	45.1 (16.2)	3.3 (2.6)	41.3 (21.9)	13 (46.4)	15 (53.6)	1 (3.6)	14 (50)	11 (39.3)	2 (7.1)
Sta. Mónica	44.1 (14.8)	5.5 (3.2)	34.0 (20.0)	30 (53.6)	26 (46.4)	11 (19.6)	8 (14.3)	28 (50.0)	8 (14.3)
Total	44.7 (16.0)	4.6 (3.5)	37.8 (20.8)	168 (58.3)	120 (41.7)	16 (5.6)	79 (27.4)	139 (48.3)	51 (17.7)

population has the typical characteristics of the people living in rural areas in Mexico: 81% cultivate corn and 91% bean. Only 45.7% of the households have access to public drainage; 60% use wood for cooking and 72% has a monthly income of no more than 100 dollars. 76% uses glazed pottery for cooking or storing food. The socioeconomic factors were tested for significance as grouped by communities.

Although there is a high prevalence of people attending to agricultural activities, we did not find data on used chemicals such as Mancozeb or Maneb.

3.2. Environmental manganese

3.2.1. Soil, crops and drinking water

Table 4 shows descriptive statistics of the manganese concentrations measured in soil, drinking water, and grass and maize leaves at each community. Manganese concentrations extracted with DTPA of less than 7 mg kg⁻¹ indicate that plants growing on them will most probably suffer from Mn deficiency. Concentrations between 7 and 12 mg kg⁻¹ are considered to provide a

moderate Mn supply to plants, while in soil with concentrations larger than 50 mg kg⁻¹ plants are supposed to have an adequate Mn supply (Castellanos et al., 2000). As can be noticed in Table 4, soil Mn concentrations are mostly within ranges considered as adequate, only in Sta. Mónica the concentrations are deficient to moderate. Soil of communities that are not close to neither anthropogenic nor natural Mn sources have the smallest concentrations (Sta. Mónica and Cuxhuacán), while Chiconcuac and Tolago show the highest concentrations in soil.

Manganese concentration in drinking water samples from each community were below the maximum permissible limits established by the Mexican regulation (0.15 mg/l, NOM, 1994). Most were even below the quantification limits of our equipment (<0.04 mg/l), except at 2 out of 5 springs at Nonoalco and Malila, where 0.07 and 0.14 mg/l of manganese were measured respectively at the end of the dry season. At Sta. Mónica, 4 out of 7 springs showed manganese concentrations between 0.03 and 0.14 mg/l during the rainy season.

Table 4
Manganese concentrations measured in DTPA-extracts of soils (0–20 cm) in drinking water sources and in grass and maize leaves at each community

Community	Mn in soils			Mn in drinking water			Mn in grass leaves			Mn in maize leaves		
	n	Mean (mg/kg)	s.d.	n	n > d.l.*	Mean (mg/l)*	n	Mean (mg/kg)	s.d.	n	Mean (mg/kg)	s.d.
Nonoalco	8	67	21	12	2	0.11	6	135	31	2	304	87
Malila	10	93	36	18	3	0.066	6	124	40	4	101	29
Chinoncuac	4	228	40	9	0	n.d.	3	221	39	1	263	
Tolago	7	111	84	5	0	n.d.	3	177	96	4	73	20
Tlaltepingo	4	61	40	6	0	n.d.	3	86	30	1	25	
Huitznopala	3	93	53	2	0	n.d.	2	52	6	1	20	
Cuxhuacán	7	56	18	9	0	n.d.	4	62	21	3	37	4
Sta. Mónica	3	10	4	21	7	0.073	2	212	110	1	50	

* Samples > dl 0.04 mg Mn/l, n.d.: not detected.

Table 5
Manganese concentrations measured in samples from various mine waste deposits

Mn processing facility	Description	Mn concentration (%)
Otongo pellet plant	Dust dumping site: recent deposits	23.1
	Medium age deposits	23.7
	Oldest deposits	24.0
Nonoalco Mn concentration plant	Panteón tailing	15.2
	Stock 3 tailing	15.0
	Regulation dam 1	9.7
	Regulation dam 2	28.2

Normal concentrations of Mn in plant tissues range between 40 and 150 mg kg⁻¹ (Reinmann and Caritat, 1998). At Chiconcuac, Tolago, and Sta. Mónica grass tissues show concentrations above the normal range. The Mn concentrations in maize tissues from Nonoalco and Chiconcuac are also above this range. Samples taken at communities that are close to either Mn extraction or processing facilities have larger Mn concentrations than communities exposed dominantly to natural Mn outcrops. Communities that are far from natural Mn outcrops show in general the smallest Mn concentrations. Only the grass tissues at Sta. Monica are unexpectedly large. This can partly be related to the fact that in this area the soil forming rocks are igneous and that the soil pH is acid, which enhances Mn mobility. In the other areas, the rocks are sedimentary and rich in carbonates; therefore the soil pH is neutral and Mn mobility is smaller.

In all analyzed samples of maize grain Mn concentrations were below quantification limits (8.4 mg/kg).

3.3. Mine wastes

Total Mn concentrations in mine wastes are very large (10–28%) (Table 5). They exceed total soil Mn

Table 7
Distribution of monitors and associated population

Community	Air samplers					Total
	M1	M2	M3	M4	M5	
Nonoalco	17	9	7	17		50
Malila	8	5	8	9	2	32
Chiconcoac	29	11				40
Tolago	13	7	17			37
Tlaltepango	8	6	6			20
Huitznopala	12	13				25
Cuxhuacán	1	2	11	8	6	28
Sta. Mónica	17	16	18	8		56
Total						288

contents measured in the region by 1 to 2 orders of magnitude (data not shown). The number of samples for mine wastes was twelve.

3.4. Airborne particles

PM₁₀ gravimetric particles and their manganese content are shown in Table 6. The total numbers of measurements were obtained multiplying the number of monitors in each community by the number of days in which we obtained valid data. In the 24 h measurements by community, median air manganese concentration varied from 0.029 µg/m³ at Sta. Mónica to 2.038 µg/m³ at Tolago. The highest 24 h concentration was found at Nonoalco (5.86 µg/m³).

The number of persons ascribed to each monitor is shown in Table 7.

3.5. Concentrations of manganese and lead in blood

The mean manganese concentration in blood varied between the first (n=288) and the second samples (n=229). In the first sample, the mean values were 9.52 µg/l (s.d. 4.14), geometric mean 8.74 µg/l, and in

Table 6
Concentration of outdoor airborne manganese and PM₁₀

Community	Number of measurements	Mn in air (µg/m ³)				PM ₁₀ in air (µg/m ³)			
		Mean	Median	Min	Max	Mean	Median	Min	Max
Nonoalco	8	2.04	1.53	0.25	5.86	39.93	41.67	22.98	50.70
Malila	20	0.46	0.27	0.04	1.61	44.79	37.45	23.16	106.32
Chiconcoac	4	0.69	0.26	0.10	2.65	82.94	82.37	70.88	96.14
Tolago	6	0.82	0.29	0.16	2.65	120.03	103.16	70.88	222.28
Tlaltepango	6	0.07	0.06	0.05	0.11	50.49	56.93	26.14	68.42
Huitznopala	8	0.05	0.04	0.01	0.11	27.94	27.72	23.86	32.46
Cuxhuacan	20	0.06	0.05	0.00	0.19	81.60	76.84	54.21	115.26
Sta. Mónica	7	0.04	0.02	0.01	0.11	47.94	49.12	16.14	66.32
Total	79	0.42	0.10	0.00	5.86	61.56	55.09	16.14	222.28

the second the mean was 10.16 $\mu\text{g/l}$ (s.d. 4.14), geometric mean 9.44 $\mu\text{g/l}$. The second sample is more representative of chronic exposure because during the first one the mining activities were lower than historically recorded. Females had higher blood Mn than males (geometric means 9.43 vs. 7.83 $\mu\text{g/l}$, $p=0.001$).

Table 8 shows blood manganese data (second sample) by community. The lowest mean Mn concentrations were found in Cuxhuacan and Santa Monica and those with higher mean values were Malila, Chiconcuac, Nonoalco and Tolago.

This table also shows blood lead results. Large concentrations of lead in blood were found in Chinconcuac, Huitznopala, Cuxhuacan and Santa Monica.

In relation to age, we found that older people had lower manganese concentrations in their blood. We observed that blood Mn concentrations decreased with age. The coefficient of change in (ln) B-Mn was -0.003 ($p=0.02$).

To search for a possible association between manganese concentrations in air and blood, we only used the first blood measurement since that was the moment when air contents were quantified under the same environmental and mining activity circumstances. We adjusted a lineal regression model using logarithmic transformation of values measured in blood. Blood manganese was associated with air manganese. The model that best explains blood manganese variations includes metal's concentration in air, age and gender (Table 9). Square $R=0.084$.

3.6. Motor test results

We found high percentage of errors on tasks reproducing hand positions (48.43% with the right hand and 63.41% with the left hand) and in hand

Table 8
Manganese ($\mu\text{g/l}$) and lead ($\mu\text{g/dl}$) concentrations in blood (second sample)

Community	Number of subjects	Blood Mn		Blood lead	
		Mean	s.d.	Mean	s.d.
Nonoalco	39	10.78	5.3	8.09	3.24
Malila	25	12.18	3.4	8.92	3.56
Chiconcuac	29	10.84	4.2	10.44	4.22
Tolago	32	9.97	3.2	8.62	4.29
Tlaltepingo	15	9.90	4.2	9.43	4.18
Huitznopala	12	9.33	2.9	11.83	3.73
Cuxhuacan	25	8.38	3.6	12.70	4.89
Santa Monica	52	9.60	4.2	13.00	5.54
Total	229	10.16	4.14	10.46	4.77

Table 9
Model explaining ln (Mn) variations in blood

Blood manganese (ln)	Coefficient	(95% CI)
Mn air median	0.074	0.018–0.130
Age	-0.003	0.006–0.000
Gender (0: men; 1: women)	0.158	0.059–0.257
Constant	2.018	1.786–2.249

movement coordination (58.54%). We also found a high percentage of errors when individuals were asked to carry out alternating tasks with the right hand (64.81%) and the left one (63.76%); poor performance of tasks coordinating two movements of the right hand (50.87%) and of the left one (45.99%); in execution and spatial coordination to change hands' position; fluency to do sequential drawings and in tasks of election and conflictive reactions (64.11%).

3.7. Association between Mn exposure and motor tests.

When we used the cutting point at 0.05 $\mu\text{g/m}^3$ for Mn exposure, eight neuromotor tests had a significant higher risk of poor performance by persons with greater exposure. However, a limitation of this cutting point was that it meant comparing one of the communities with lower concentrations (Sta. Monica) against all the others, whose cutting point was above this limit; therefore, this method offered little discrimination within the studied population.

The cutting point 0.1 $\mu\text{g/m}^3$ allows the division of practically the whole population in 50% with high exposure and 50% with low exposure. Under this criterion, three of the neuromotor tests report a significant risk of poor performance by individuals in the high exposure category (coordination of two movements, left hand performance; change of hand position, left hand performance; and conflictive reaction).

Considering cumulative exposure index in quartiles (to have variability below and above the cutting point) and adjusting by age and education, we found that the motor tests that were statistically significant and consistent in the three models were: coordinating two movement's performance, change of position of the left hand and tasks of conflictive reactions. Poor performance of these tests was associated with higher levels of manganese exposure (Table 10). A significant effect of age and schooling in most of the test was found, the multiple logistic models are adjusted for these variables. No other variables such as alcohol consumption, socioeconomic status or house conditions show a significant effect.

Table 10

Adjusted Odds ratio (OR) and 95% Confidence Interval (CI) for neuromotor tests associated with manganese exposure using different cut points*

	Median with cutting point 0.05	Median with cutting point 0.1	Cumulative exposure index in quartiles
Touching fingers, right hand speed ⁺	1.33 (0.67, 2.63)	1.14 (0.62, 2.08)	1.12 (0.44, 2.83)
Touching fingers, left hand speed ⁺	1.28 (0.63, 2.59)	1.02 (0.55, 1.89)	1.13 (0.43, 2.96)
Touching fingers, right hand precision ⁺	3.09 (1.33, 7.21)	1.57 (0.83, 2.99)	1.99 (0.67, 5.92)
Touching fingers, left hand precision ⁺	2.18 (0.96, 4.95)	1.21 (0.63, 2.34)	1.19 (0.42, 3.36)
Reproduce hand positions, right hand performance**	2.88 (0.95, 8.79)	1.27 (0.57, 2.83)	1.42 (0.31, 6.43)
Reproduce hand positions, left hand performance**	2.56 (0.55, 11.88)	1.03 (0.36, 2.91)	–
Reproduce hand mirror positions, right hand**	0.90 (0.49, 1.66)	0.98 (0.57, 1.67)	1.59 (0.72, 3.52)
Reproduce hand mirror positions, left hand**	0.89 (0.47, 1.68)	1.01 (0.59, 1.75)	1.30 (0.58, 2.93)
Hand mirror coordination**	1.42 (0.77, 2.62)	1.48 (0.86, 2.53)	1.21 (0.55, 2.67)
Alternated movements, right hand**	1.44 (0.55, 3.79)	1.20 (0.53, 2.70)	1.95 (0.52, 7.27)
Alternated movements, left hand*	1.55 (0.59, 4.06)	1.25 (0.56, 2.79)	1.78 (0.48, 6.55)
Two movement coordination, right hand fluency ⁺	1.12 (0.63, 2.007)	1.09 (0.65, 1.85)	1.66 (0.74, 3.70)
Two movement coordination, left hand fluency ⁺	1.03 (0.57, 1.84)	0.96 (0.57, 1.63)	1.12 (0.50, 2.48)
Two movement coordination, right hand performance**	2.71 (0.32, 22.80)	0.80 (0.19, 3.31)	0.96 (0.06, 16.30)
Two movement coordination, left hand performance	2.36 (0.87, 6.38)	1.99 (1.15, 3.43)	3.69 (0.90, 15.13)
Asymmetric rhythm performance	1.14 (0.55, 2.36)	1.43 (0.74, 2.79)	1.60 (0.58, 4.44)
Change of hand position, right hand performance	2.21 (1.03, 4.78)	1.12 (0.57, 2.21)	1.77 (0.65, 4.85)
Change of hand position, left hand performance	2.73 (1.25, 5.97)	1.98 (0.99, 3.95)	3.09 (1.07, 8.92)
Change of hand position, right hand spatial coordination	1.21 (0.50, 2.94)	0.72 (0.33, 1.57)	1.11 (0.36, 3.42)
Change of hand position, left hand spatial coordination	1.03 (0.42, 2.56)	0.76 (0.34, 1.70)	0.86 (0.25, 2.91)
Sequential drawings fluency	2.13 (1.13, 4.01)	1.25 (0.48, 3.28)	2.04 (0.33, 12.63)
Sequential drawings sequence continuity	2.83 (0.77, 10.43)	1.71 (0.65, 4.50)	0.72 (0.13, 3.80)
Choice reaction	2.14 (1.03, 4.43)	1.19 (0.64, 2.22)	1.66 (0.64, 4.34)
Conflictive reaction	2.84 (1.49, 5.40)	2.08 (1.17, 3.71)	2.30 (1.002, 5.28)

* Adjusted by age and schooling. + The neurological test has only two categories (dichotomy), so the model is logistic with dichotomy response.

++ The OR which is shown is that of the comparison between the fourth and first quartiles.

** As this neurological test has three categories and we ran a logistic model with nominal response (polytomic without order), the OR that is shown is the one that corresponds to the comparison between categories 2 and 0 of the neurological test.

We found no significant association between motor performance and blood levels of neither Mn nor lead.

4. Discussion

This study evaluates manganese exposure and its effects on neuromotor tests in a representative population sample from communities living in a manganese mining district.

We analyzed manganese concentrations in the environment to assess differences in Mn exposure between the studied communities and also to discover relevant population exposure routes. We found that in communities close to the processing facilities and mining sites, manganese concentrations in soil and crop tissues are larger than in communities exposed to natural Mn outcrops. At communities located far away from either natural or anthropogenic Mn sources, soil and generally also crop contents of manganese were smallest. Concentrations of Mn in air borne particles were also higher in communities that are close to Mn processing or extraction sites. Waste deposits of the processing facilities contain up to 2 orders of magnitude

more Mn than the soil in the region. We therefore assume that mine waste deposits might contribute to Mn concentrations in dust, apart from the Mn emissions from the pellet plant in Otongo.

According to our data, manganese concentrations in drinking water are not a relevant manganese exposure source for the local population. We have not evaluated Mn contents in food, but the few maize grain samples from the communities with largest Mn contents in soils were below quantification limits. Since Mn concentrations in airborne particles contribute to explain Mn concentrations in blood samples, we assume that inhalation is the most probable exposure route.

The Molango district provides the total Mexican Mn production. During 2001 and 2002 Mn production decreased due to a drop in the international manganese demand. It was during this period when Mn blood measurements were carried out; precisely between 2002 and 2003. In a pilot study Santos-Burgoa et al. (2001) found Mn in blood in a median concentration of 17.71 µg/l, and an s.d. of 11.99, in the same population. This confirms that the emissions before 1998 were probably greater.

For comparison with other sites in Mexico, a probabilistic sample of Mexico City's pregnant women had an average B-Mn of 7.72 $\mu\text{g/l}$ (range 5.6 to 11.4) (to be published).

We found that women have a significant higher Mn concentration in their blood, than men. This finding is similar to those reported by [Kondakis et al. \(1989\)](#) and [Baldwin et al. \(1999\)](#). These authors discuss that there is a difference in metabolism between gender and that women absorb more Mn than men. However, there is no evidence of women being at greater risk due to Mn exposure.

Blood-Mn in this study shows a correlation with airborne Mn. The relationship between airborne and blood Mn has never been clearly observed in occupational studies. A hypothesis for this could be related to the high variation of occupational exposure, differently from the more stable environmental exposure. Since MnB is an indicator of the body burden, the relationship with airborne concentration could be more evident when reflecting a uniform exposure over time, without the interference caused by the fluctuations of occupational settings ([Lucchini et al., 1995](#)). In this way, blood manganese can be considered as a marker of body burden indicator ([Smargiassi and Mutti, 1999](#)); this is the case when considering chronic exposure.

In this study it was necessary to explore the lead interaction since this toxicant is highly prevalent in Mexican dish and cooking ware, and it has neurotoxic potential. The main source of lead in this population is low temperature-glazed pottery used for cooking and storing food ([Rojas-López et al., 1994](#)). We found differences in blood lead concentration among communities. We found no significant association between motor performance and blood lead. This may be because the motor test used does not specify for evaluated neurological effects associated with lead.

As discussed before, we think that inhalation is probably a very relevant exposure pathway for this population, given the high concentration in airborne particles. The International recommendation for secure limits in non-occupational exposure is 0.05 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (U.S. A EPA, 1984), which is much smaller than the concentrations found in this study. Highest Mn concentrations in air were found in communities near the processing plants. Studies reporting inhalation as the most important exposure source (compared to others routes, such as oral exposure), inhaled Mn may enter the central nervous system (CNS) directly with three orders of magnitude, as compared to the oral route ([Andersen et al., 1997](#)).

Several studies have found initial neurological signs with air Mn concentrations in the range of 0.022 to 1 mg/m^3 ([Mergler et al., 1994](#); [Iregren, 1990](#); [Wennberg et al., 1992](#); [Chia et al., 1995](#); [Lucchini et al., 1999](#)). [Baldwin et al. \(1999\)](#) suggest that environmental exposure may have contributed to the neurobehavioral and neurophysiological alterations observed at larger Mn concentrations in a population based study.

As mentioned, the manganese air concentrations reported in this study are not at the individual level. These could lead to a bias in personal exposure. However we think that the area monitors assigned to each person served as a good proxy of their mean exposure.

As to neuropsychological tests, we found alterations in the ability to perform tasks that evaluate movement coordination and change of position associated with high manganese air exposure. These tasks are used to evaluate the dynamic organization of the motor action. The organization of a motor action that takes place during a period of time requires some degree of generalization of motor innervations and their conversion in "kinetic melodies" ([Christensen, 1987](#)). Brain cortex divisions responsible of different components for the motor action are the motor, post central and occipital areas of the brain. Pre-motor areas are in charge of organizing the dynamics of movement and the frontal systems exert discrimination and control abilities ([Christensen, 1987](#)). Conflictive reactions are tasks that assess verbal regulation of movements; they respond according to stimuli parameters and have to do with pre-motor alterations ([Ardila and Ostrosky-Solis, 1991](#)).

Our findings agree with those reported by [Iregren, 1990](#), who applied a computerized neuromotor test in workers exposed to manganese and found that manganese appears to affect sequential, coordinated upper limb movements. In another study, [Mergler and co-workers \(Mergler et al., 1994\)](#) employed Luria's neuropsychological test battery in exposed workers, they found that Mn exposed workers had lower motor performance than control subjects, especially in tasks that require alternating and coordinating movements with one or with both hands. Other studies also report alterations of manual skills on battery factory workers ([Iregren, 1990](#); [Roels et al., 1992](#)). [Wennberg and coworkers \(1992\)](#), reported that slowness of alternating hand movements is an initial sign of extrapyramidal dysfunction.

Considering cumulative exposure index and adjusting by age and education, we found that the motor tests that were statistically significant and consistent in the three models were: coordinating two movement's

performance, change of position of the left hand and tasks of conflictive reactions. This is an important observation of this study, that fits into the concept of a long-term neurotoxic action of manganese, probably based on a cumulative toxicity.

There is solid evidence supporting that Mn exposure through inhalation induces the development of a progressive neurological syndrome that involves motor alterations, which starts with very mild symptoms (Barbeau, 1984; Calne et al., 1994; Chia et al., 1995). The motor alterations that appear to be more sensitive to Mn exposure are those that require fast coordination, sequence and alternation of movements (Hudnell, 1999). Iregren (1990), suggested that the ability to repeat simple movements could be particularly sensitive to Mn exposure, this study concluded that initiation of movements is the main target of Mn in the central nervous system. Mn appears to affect sequential, coordinated upper limb movements.

Several studies carried out in workplaces report the adverse effect of Mn exposure on motor functions manifested by poor hand steadiness, coordinated alternating movement and tremor (Mergler et al., 1994; Roels et al., 1992). Few studies report a negative correlation between total blood Mn levels and manual motor performance (Lucchini et al., 1995, 1999; Roels et al., 1987).

Damage to output pathways downstream to the nigrostriatal dopaminergic pathway (globus pallidus) has been implicated as a potential cause for the Parkinson-like syndrome associated with chronic low-level Mn exposure (Calne et al., 1994).

The severity of motor dysfunction depends on the dose of exposure and involves both the amount and the duration (Iregren, 1990; Roels et al., 1992). Previous reports show a lack of correlation between blood Mn and neurological effects (Mergler and Baldwin, 1997) but a large correlation with air Mn.

We used different cut points to assess the association between air manganese and motor test. We think that these three approaches are illustrative about how international guidelines, median value from these population and chronic exposure consistently show similar results. However, we think that in this case the comparison between different levels of chronic exposure is more relevant in order to show how the risks increase in the high exposure group.

Our results could be affected by the difference in exposure between nearby and far away households that might have been greater in the past, so the values reported in this study might be underestimating the risk.

Although our results do not provide a complete diagnosis, they support previously published reports evaluating motor function as a basic tool for the assessment of Mn effects on the nervous system. Our results indicate that even in the absence of neurological disorders, there is an incipient motor deficit in the population environmentally exposed to large Mn levels.

An adequate follow up of these subjects is extremely important, since the early identification of disorders related to Mn exposure allows actions to control Mn airborne emissions, in order to prevent the progression of the neurological lesion to an irreversible state.

One of the problems of this study is the lack of personal levels of exposure, which makes difficult to make an analysis that describe more precisely the dose–response curve.

The study limitations open up questions and improvements for future research. This study provides a cross-sectional picture of a population with lifetime exposure that warrants a longitudinal examination.

Acknowledgements

We thank Mireya Chávez, Rodolfo Solís, Mireya Alcaraz, Sergio Montes, Eva Salinas, Leticia Martínez, Abigail Manzano, Andrea Herre, Kumiko Shimada and Rufino Lozano for their technical assistance.

The authors also acknowledge the technical assistance of Mr. K. López and Mr. F.J. Jaimes for the operation of the accelerator.

This work was funded by the International Development and Research Center, Canada. Project number 100662 with further contributions of the Health Services of Hidalgo and the State Council of Ecology, Hidalgo.

References

- Andersen M, Gearhart J, Clewell H. Pharmacokinetic data needs to support risk assessment for inhaled and ingested manganese. *Neurotoxicology* 1997;20:161–71.
- Alexandri R, Martínez V. Geología del Distrito Manganesífero de Molango, Hidalgo. In: Salas G, editor. *Geología económica de México*. Fondo de cultura económica, Mexico; 1988. p. 401–8.
- Ardila A, Ostrosky-Solis F. Diagnóstico del Daño Cerebral: enfoque neuropsicológico. Mexico: Trillas; 1991. 256 pp.
- Aschner M. Neuron–astrocyte interaction: implications for cellular energetics and antioxidant levels. *Neurotoxicology* 2000;21:1101–7.
- Aschner M, Aschner L. Manganese neurotoxicity: cellular effects and blood–brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev* 1991;15:333–40.
- ATSDR. Draft for public comment (update). Toxicological profile for manganese. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 1997.

- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry Toxicological Profile for Manganese. Atlanta, GA: Department of Health and Human Services; 2000.
- Barbeau A. Manganese and extrapyramidal disorders (a critical review and tribute to Dr. George C. Cotzias). *Neurotoxicology* 1984;5: 13–35.
- Baldwin M, Mergler D, Larribe F, Belanger S, Tardif R, Bilodeau L, et al. Bioindicator and exposure data for a population based study of manganese. *Neurotoxicology* 1999;20:343–54.
- Calne D, Chu N, Huang C, Lu C, Olanow W. Manganism and idiopathic parkinsonism: similarities and differences. *Neurology* 1994;44:1583–6.
- Castellanos J, Uvalle-Bueno J, Aguilar-Santielises A. Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. 2a Edición. San Miguel de Allende, Guanajuato, México: Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola (INCAPA); 2000. 226 pp.
- Chia S, Gan S, Chua L, Foo S, Jayaratnam J. Postural stability among manganese exposed. *Neurotoxicology* 1995;16:519–26.
- Christensen A. El diagnóstico neuropsicológico de Luria. Visor-libros editores, Madrid, España; 1987. 210 pp.
- Cohen D. Accelerator based ion beam techniques for trace element aerosol analysis. In: Landsberger, Sheldon, Creatchman, Marsha, editors. *Elemental analysis of airborne particles*. Amsterdam: Gordon and Breach; 1999. p. 97–138.
- Couper J. On the effect of black oxide of manganese when inhaled in the lungs. *Br Ann Med Pharmacol* 1837;1:41–2.
- Cruz-Ramírez, J., Olvera-Vargas, A. Movilización del Mn por erosión hídrica en el Distrito Minero de Molango, Hidalgo. Bachelors degree Thesis. School of Geography, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2004.
- Davis J. Methylcyclopentadienyl manganese tricarbonyl: health risk uncertainties and research directions. *Environ Health Perspect* 1998;1:191–201 [Suppl.].
- Finley J. Does environmental exposure pose a health risk to healthy adults? *Nutr Rev* 2004;62:148–53.
- García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen y sus aplicaciones a la República Mexicana. México: Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México; 1975. 246 pp.
- García, E., Clima de México. Hoja a escala 1 : 4000000. Atlas Nacional de México, Instituto de Geografía Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, 1990.
- Golden C. A Standardized version of Luria's Neuropsychological Tests. In: Filskov Sy, Boll TJ, editors. *Handbook of clinical neuropsychology*. New York: Wiley; 1981. 225 pp.
- Grohse P. Trace element analysis of airborne particles by atomic absorption spectroscopy, Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy, and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. In: Landsberger S, Creatchman M, editors. *Elemental analysis of airborne particles*. Amsterdam: Gordon and Breach; 1999. p. 1–66.
- HaMai D, Bondy S. Oxidative basis of manganese neurotoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1012:129–41.
- Hudnell K. Effects from environmental Mn exposures: a review of the evidence from non-occupational exposure studies. *Neurotoxicology* 1999;20:379–98.
- IAEA. Manual for QXAS. Vienna: International Atomic Energy Agency; 1995.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Hombres y mujeres de México, México D.F. 2004.
- Iregren A. Psychological test performance in foundry workers exposed to low levels of manganese. *Neurotoxicol Teratol* 1990;12:673–5.
- Kondakis G, Makris N, Leotsinidis M, Prinou M, Papapetropoulos T. Possible health effects of high manganese concentration in drinking water. *Arch Environ Health* 1989;44:175–8.
- Krächler M, Rossipal E, Micetic-Turk D. Concentration of trace elements in sera of newborns young infants and adults. *Biol Trace Elem Res* 1999;68:121–35.
- Landsberger S, Creatchman M. *Elemental analysis of airborne particles*. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers; 1999. p. 1–66.
- Lindsay W, Norvell W. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and Koper. *Soil Sci Am* 1978;42:421–8.
- Lucchini R, Selis L, Folli D, Apostoli P, Mutti A, Vanoni O, et al. Neurobehavioral effects of manganese in workers from a ferroalloy plant after temporary cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health* 1995;21:143–9.
- Lucchini R, Apostoli P, Perrone C, Placidi D, Albini E, Migliorati P, et al. Long-term exposure to “low levels” of manganese oxides and neurofunctional changes in ferroalloy workers. *Neurotoxicology* 1999;20:287–98.
- Luria AR. *La investigación neuropsicológica*. Moscú: MGU; 1975. 380 pp.
- Mena I, Marin O, Fuenzalida S, Cotzias G. Chronic manganese poisoning. *Neurology* 1967;17:128–36.
- Mergler D, Baldwin M. Early manifestations of manganese neurotoxicity in humans: an update. *Environ Res* 1997;73:92–100.
- Mergler D, Huel G, Bowler R, Iregren A, Belanger S, Baldwin M, et al. Nervous system dysfunction among workers with long-term exposure to manganese. *Environ Res* 1994;64:151–80.
- Mergler D, Baldwin M, Bélanger S, Larribe F, Beuter A, Bowler R, et al. Manganese neurotoxicity: a continuum of dysfunction: results from a community based study. *Neurotoxicology* 1999;20: 327–42.
- Miller D, Paschal D, Gunter E, Stroud P, D'angelo J. Determination of lead in blood using electrothermal atomization atomic absorption spectrometry with L'vov platform and matrix modifier. *Analyst* 1987;112:1701–4.
- Miranda J, Rodríguez-Fernández L, De Lucio O, López K, Harada J. A new beamline for characteristic X-ray experiments at the Pelletron accelerator. *Rev Mex Fis* 2000;46:367–72.
- Norma Oficial Mexicana nom-127-ssa1, salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización, México, 1994.
- Normandin L, Ann Beaupre L, Salehi F, St-Pierre A, Kennedy G, Mergler D, et al. Manganese distribution in the brain and neurobehavioral changes following inhalation exposure of rats to the three chemical forms of manganese. *Neurotoxicology* 2004;25:433–41.
- Ostrosky F, Quintanar L, Ardila A. Detection of brain damage: neuropsychological assessment in a Spanish speaking population. *Int J Neurosci* 1989;49:141–9.
- Pleban A, Pearson K. Determination of manganese in whole blood and serum. *Clin Chem* 1979;25:1915–8.
- Reinmann C, Caritat P. *Chemical elements in the environment*. Germany: Springer Verlag; 1998. p. 198–201.
- Restrepo I. Evaluación técnica, ambiental, de salud y socioeconómica de cinco municipios del estado de Hidalgo. México: Centro de Ecología y Desarrollo AC; 1994.
- Roels H, Lauwerys R, Buchet J, Genet P, Sarhan M, Hanotiau I, et al. Epidemiological survey among workers exposed to manganese: effects on lung, central nervous system, and some biological indicators. *Am J Ind Med* 1987;11:307–27.

- Roels H, Ghyselen P, Buchet J, Ceulemans E, Lauwerys R. Assessment of the permissible exposure level to manganese in workers exposed to manganese dioxide dust. *Br J Ind Med* 1992;49:25–34.
- Rojas-López M, Ríos C, Santos-Burgoa C. The use of lead-glazed ceramics is the main factor associated to high lead levels. *J Toxicol Environ Health* 1994;42:45–52.
- Santos-Burgoa C, Ríos C, Mercado L, Arechiga-Serrano R, Cano-Valle F, Eden-Wynter R, et al. Exposure to manganese: health effects on the general population, a pilot study in central México. *Environ Res* 2001;85:90–104.
- Smargiassi A, Mutti A. Peripheral biomarkers and exposure to manganese. *Neurotoxicology* 1999;20:401–6.
- Spurny R. *Analytical Chemistry of Aerosols*. Boca Raton, Florida, USA: Chemical Rubber Company Press; 1999.
- Tjälve H, Henriksson J. Uptake of metals in the brain via olfactory pathways. *Neurotoxicology* 1999;20:181–96.
- USEPA. Health assessment document for manganese. EPA 600-83-013F. United States Environmental Protection Agency; 1984. August.
- Wennberg A, Hagman M, Johansson L. Preclinical neurophysiological signs of parkinsonism in occupational manganese exposure. *Neurotoxicology* 1992;13:271–4.