

---

## AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA

---

### EM INDIVÍDUOS

---

### OCUPACIONALMENTE

---

### EXPOSTOS AO CHUMBO

---

FLÁVIA DE CASTRO PEREIRA, **FABÍOLA LEIDE TEIXEIRA DOS SANTOS**, CESAR AUGUSTO SAM TIAGO VILANOVA-COSTA, **CLÁUDIO CARLOS DA SILVA**, APARECIDO DIVINO DA CRUZ

*Resumo: realizou-se uma avaliação citogenética de indivíduos ocupacionalmente expostos ao chumbo. As anomalias que mais se apresentaram elevadas foram os Broken eggs e as binucleações celulares. A média das frequências de células binucleadas no grupo exposto foi 3,5 vezes superior a do grupo-controle e a média das frequências de Broken eggs no grupo exposto foi 16,5 vezes superior à frequência apresentada pelo grupo controle. Os dados demonstraram um alto grau de citotoxicidade nos indivíduos do grupo exposto ao chumbo.*

*Palavras-chave: Citogenética, Exposição ocupacional, Chumbo, Micronúcleo, Broken-egg*

O chumbo (Pb) é um metal encontrado na natureza em estado livre e em composição com vários outros elementos. Apresenta número atômico (Z) igual a 82, peso atômico (A) igual a 207,21 e ponto de fusão igual a 327° C. A partir de 550° C, começa a produzir vapor, entrando em ebulição ao atingir cerca de 1740° C. Em interação com outros elementos dá origem a compostos tais como sulfato de chumbo (PbSO<sub>4</sub>), cromato de chumbo (PbCrO<sub>4</sub>), arsenato de chumbo (PbHAsO<sub>4</sub>), dióxido de chumbo (PbO<sub>2</sub>), brometo de

chumbo ( $\text{PbBr}_2$ ), chumbo-tetraetila [ $\text{Pb}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_4$ ], chumbo-tetrametila [ $\text{Pb}(\text{CH}_3)_4$ ], litargírio ( $\text{PbO}$ ), zarcão ( $\text{Pb}_3\text{O}_4$ ), alvaiade [ $\text{PbCO}_3 \cdot \text{Pb}(\text{OH})_2$ ] (SPÍNOLA *et al.*, 1980).

Em razão de seu baixo ponto de fusão, de sua ductibilidade e facilidade em formar ligas metálicas, o chumbo foi um dos primeiros metais a serem manipulados pelo homem, que, desde a antigüidade, o utilizava na fabricação de utensílios, armas e adornos. Foi, no entanto, a partir do século XVIII que sua utilização atingiu grande escala, quando passou a ser incorporado aos processos industriais então nascentes (AUDESIRK, 1985).

Existem compostos de chumbo dispersos na atmosfera em forma sólida e em forma gasosa. Estima-se que a concentração de chumbo atmosférico venha aumentando progressivamente. Camadas de neve da região Ártica, que se depositaram há cerca de 2.000 anos, apresentam concentração de chumbo da ordem de 0,005mg/kg. A concentração em camadas que se depositaram após 1750 – data que marca o início da Revolução Industrial – aumenta de forma acentuada, particularmente nas últimas décadas, atingindo 0,20mg/kg em 1965, 400 vezes maior que os níveis “naturais” (MOROZUMI, 1969). Estudos em esqueletos humanos enterrados antes da disseminação do uso do chumbo demonstram um aumento de cerca de cem vezes na carga óssea do metal entre 3000 A.C. e o presente (SHAPIRO *et al.*, 1975; ERICSON *et al.*, 1979; GRANDJAN *et al.*, 1979).

Atualmente obtém-se o chumbo em estado livre através de diversas técnicas. A mais comum é a refinação elétrica pelo método de Parker. Tal processo de refinação se aplica, por exemplo, para a produção de chumbo metálico utilizado em inúmeros processos industriais, entre eles o da produção de acumuladores elétricos, ligas de chumbo, chapas, tubos, revestimentos de cabos de aço. Os compostos de chumbo têm também diversos usos industriais, entre eles a produção de vários pigmentos largamente utilizados na indústria química. Compostos orgânicos de chumbo até recentemente eram utilizados como antidetonantes na gasolina.

Os riscos à saúde associados à exposição ao chumbo foram constatados há pelo menos 2000 anos (SPÍNOLA *et al.*, 1980; WINDEBANK, 1993). Diferentemente de outros metais – como o ferro, o zinco, o cobalto, o cromo, o manganês, o cobre – o chumbo é um elemento totalmente estranho ao metabolismo humano, em

qualquer quantidade. O chumbo atua como uma neurotoxina em diversos tecidos. Com base em uma concentração limiar, interfere em diversas passagens metabólicas, causando sinais e sintomas da doença conhecida como saturnismo – doença que afeta o sistema nervoso, promovendo degeneração –, anemia e deformação nos ossos. Os efeitos do saturnismo são particularmente graves nas crianças, cujo cérebro e ossos ainda estão em formação. A intoxicação com grandes doses de Pb provoca intensa dor intestinal, tremores seguidos de paralisia, convulsões e mau funcionamento dos rins. Tal quadro pode ter origem tanto ambiental, mais restrito às crianças, quanto origem profissional, quando é chamado de intoxicação profissional pelo chumbo (IPCh) (ARAÚJO *et al.*, 1999).

O chumbo usado na indústria constitui um fator de risco para a saúde do homem. Populações residentes em áreas industriais e em grandes cidades são intensamente expostas ao chumbo, que se encontra presente no ar atmosférico em forma de pequenas partículas, podendo causar mutações, defeitos congênitos e até mesmo o câncer (HIRVONEM, 1995).

As baterias são a maior fonte para a indústria de chumbo secundário. A grade da bateria contém mais de 90% de chumbo metálico e pode ser imediatamente fundida. Mais de 70% da produção mundial de chumbo é consumida na manufatura de baterias de chumbo, a maior parte pelo setor de transportes (GOMES; MEDINA, 2001).

O processo atual de reciclagem de chumbo de baterias automotivas utiliza, na grande maioria, a rota pirometalúrgica. Esta, além de exigir um considerável investimento de capital, é potencialmente poluidora, em razão de emitir gases  $SO_x$  ( $SO_2$ ,  $SO_4$  e outros) para a atmosfera, e altamente tóxica para os organismos, principalmente pela presença de resíduos de chumbo (GOMES; MEDINA, 2001).

Além das populações residentes em grandes áreas urbanas sofrerem com a má qualidade do ar, há ainda segmentos da sociedade que estão expostos ainda mais a agentes que podem comprometer sua saúde. São exemplos clássicos os tabagistas, etilistas e aqueles trabalhadores ocupacionalmente expostos a algum agente tóxico. Segundo Santos-Mello e Cavalcante (1992), agentes ocupacionais podem induzir a vários tipos de câncer, tais como os

do trato urinário, da pele, da laringe, do pâncreas, do pulmão e de leucemias.

Em razão da exposição da população em geral a diversos agentes potencialmente citotóxicos e genotóxicos, testes rápidos e eficazes estão sendo desenvolvidos, como dosímetros biológicos ou biodosímetros de exposição. A Citogenética estuda o comportamento cromossômico na célula e utiliza marcadores citogenéticos para a determinação de agentes físicos e químicos genotoxicamente ativos e potencialmente carcinogênicos no ambiente. Entre os marcadores mais utilizados na análise citogenética, estão as aberrações cromossômicas estruturais instáveis (cromossomos dicêntricos, tricêntricos, anéis cêntricos, fragmentos acêntricos) e estáveis (translocações, deleções e inversões) de linfócitos T e as alterações citocrônicas evidenciadas pelo teste de micronúcleo (MN) em células da medula óssea, esfoliado oral e linfócitos de sangue periférico (DA SILVA, DA CRUZ, 2002; RABELLO-GAY *et al.*, 1991).

O teste do micronúcleo de células esfoliadas da cavidade oral e de sangue periférico tem sido eficiente e promissor, utilizado para avaliar os efeitos genotóxicos produzidos por baixas doses de substâncias carcinogênicas, às quais as populações humanas estão usualmente expostas (STICH *et al.*, 1982). Um aumento na frequência de micronúcleos está relacionado com a quebra de um cromossomo ou de uma interferência que possa ter ocorrido durante o processo da mitose celular, (DA CRUZ *et al.*, 1994), em que o núcleo se fragmenta, formando estruturas extranucleares que contêm pequenos fragmentos de DNA. Estes danos sofridos pelo DNA da célula, expostas aos agentes ambientais, são incorporados como erros, uma vez que não são reparados pelos complexos sistemas de reparo da célula. Conseqüentemente, ocorre um aumento na instabilidade genética que é a causa subjacente do desenvolvimento de neoplasias. (CHAVES *et al.*, 2002).

A molécula de DNA é responsável pelo controle de todo metabolismo que a célula desempenha durante o ciclo celular. Alterações na estrutura da molécula de DNA podem resultar em descontrole das funções celulares. Assim, eventos que desregulem o ciclo celular são as causas que antecedem a iniciação ou promoção tumoral. Cromossomos aberrantes, frequência aumentada de micronúcleos (MN) e a troca entre cromátides irmãs frequentes,

sejam espontâneos ou induzidos por agentes genotóxicos, são bons indicadores de danos biológicos ao material genético (DA CRUZ *et al.*, 1994). O aumento do dano genético no epitélio é um fator de risco associado ao aparecimento de tumores da cavidade oral (KAYAL *et al.*, 1993; NAIR *et al.*, 1991). “O aumento na frequência de micronúcleos é um bom indicador da ação clastogênica de um agente ambiental sobre o material genético e, conseqüentemente, pode ser usado como marcador de genotoxicidade” (TOLBERT *et al.*, 1991). A avaliação da frequência de micronúcleos induzidos em células por agentes mutagênicos e clastogênicos tem sido amplamente usada na análise de danos citogenéticos (BLOCHING *et al.*, 2000; PRASAD *et al.*, 1995).

Os micronúcleos emergem durante a mitose das células que constituem a camada basal do epitélio e aparecem como uma parte de DNA extranuclear, constituídos por fragmentos de cromossomos ou cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal das células filhas durante o processo de divisão celular. (MAJER *et al.*, 2001).

A formação de micronúcleos pode estar associada ao atraso da disposição do cromossomo na parte equatorial da célula, e conseqüentemente um cromossomo ou mais sofrem erros de disjunção e são simplesmente eliminados do núcleo principal. Assim, por representar danos nucleares, os micronúcleos podem ser utilizados como marcadores de anormalidades associadas à citotoxicidade ou genotoxicidade (TOLBERT *et al.*, 1991). Conseqüentemente os micronúcleos são indicadores de exposição individual a agentes físicos ou químicos presentes nos ambientes e que podem ser absorvidos, inalados ou ingeridos pelo indivíduo exposto.

A formação de micronúcleos é um indicativo de genotoxicidade de um determinado agente capaz de causar mutações na fita de DNA, principalmente grandes deleções. Conseqüentemente, ocorre um aumento da instabilidade genética que é a causa subjacente ao desenvolvimento de neoplasias (CHAVES, 1999).

Adicionalmente, os eventos de caráter citotóxico e genotóxico podem resultar em material genético extranuclear, com a formação de estrutura semelhante ao micronúcleo clássico, além de serem eventos correlacionados com os processos de iniciação e/ou promoção tumoral (TOLBERT *et al.*, 1991).

Existem alguns critérios que devem ser considerados para a correta classificação e determinação da frequência de Micronúcleos. De acordo com da Cruz e colaboradores (1994), quatro aspectos devem ser observados: o diâmetro do Mn deve ser menor que um terço do núcleo principal; o Mn não deve ter refração; a coloração do Mn não deve ser mais escura que a coloração do núcleo principal; o Mn não deve estar unido ao núcleo.

Os eventos citotóxicos podem induzir ainda outros estados celulares, como a formação de células com núcleo em forma de *broken egg* (Be).

Em geral, os biomarcadores são divididos em três grupos: o primeiro grupo de biomarcadores serve para definir a exposição aos agentes carcinogênicos, o segundo grupo de biomarcadores indica os efeitos biológicos dos agentes ambientais no tecido alvo e o terceiro grupo de biomarcadores fornece dados informativos sobre a susceptibilidade individual àquele tipo de exposição. (BLOCHING *et al.*, 2000).

A avaliação da frequência de micronúcleos é um marcador eficaz de genotoxicidade ou citotoxicidade de agentes ambientais de exposição individual. As células da mucosa oral, em situações normais, renovam-se a cada três semanas. Assim, os danos que são causados ao material genético das células da camada basal do epitélio geram fragmentos extranucleares, indicando a citotoxicidade ou genotoxicidade dos agentes aos quais os indivíduos estão expostos. (BLOCHING *et al.*, 2000)

## MATERIAL E MÉTODOS

### Grupo Amostral

O estudo proposto compôs-se basicamente de dois grupos amostrais, que foram divididos em grupo exposto e grupo controle, perfazendo um total de 31 casos. O grupo exposto foi composto por 21 profissionais que trabalham na fábrica de baterias da cidade de Firminópolis(GO). A fábrica de reciclagem de baterias foi visitada entre os meses de julho de 2003 a abril de 2004. A empresa permitiu a coleta de amostras biológicas de seus funcionários sem maiores dificuldades e deu o consentimento informal para a coleta do material biológico. Todas as amostras foram ob-

tidas de voluntários que contribuíram para o preenchimento de um questionário seguido de uma ficha que continha um Termo de Consentimento Informado para coleta de material biológico.

Os trabalhadores doadores tinham idade que variava de 16 a 60 anos, eram de ambos os sexos. A variação do tempo de exposição era de três meses a 5 anos. O grupo controle foi composto de 10 indivíduos com idade variando entre 21 a 52 anos, escolhidos de acordo com o padrão de sexo, idade e hábitos apresentados pelo grupo exposto.

Os dois grupos foram formados por indivíduos de ambos os sexos, combinados segundo a idade e o hábito de consumo, como tabagismo e etilismo. Os indivíduos do grupo exposto responderam a questões que caracterizaram sua jornada diária de trabalho no estabelecimento e na função, tais como preparador de sucatas, soldador de baterias, operador de máquinas, montador de baterias, copeira, fundidor, trabalhadores envolvidos no processo de acabamento de baterias e serviços gerais. A Tabela 1 relaciona os dados gerais dos trabalhadores na fábrica de reciclagem de baterias no município de Firminópolis(GO).

Tabela 1: Relação das Profissões, do Tempo de Exercício na Função (meses), a Carga Horária Diária (CH) e os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) recomendados pela ABNT, 1987

Profissão	T. Exercício(Meses)	CH (diária)	EPIs
1	12	8	7
1	36	8	7
2	18	8	7
2	48	7	7
3	62	8	7
1	12	12	7
4	36	8	7
1	18	12	7

Continua...

...Conclusão

Profissão	T. Exercício(Meses)	CH (diária)	EPIs
1	6	8	7
5	62	8	7
5	48	8	7
6	62	8,5	6
7	36	8	9
1	20	8,5	7
1	18	8,5	5
8	12	7	6
3	62	8	3
3	36	8,5	7
1	N/a	12	7
8	48	8	7
6	36	8	7

Legenda: Profissões: 1) Serviços Gerais, 2) Operador de Máquinas, 3) Montador de Baterias, 4) Preparador de Sucata, 5) Encarregado de Acabamento de Baterias, 6) Soldador de Baterias, 7) Secretária e Copeira, 8) Fundidor. EPIs: 1) Luvas, 2) Jaleco, 3) Máscara, 4) Luvas e Jaleco, 5) Luvas e Máscara, 6) Jaleco e Máscara, 7) Luvas, Jaleco, Máscara e outros, 8) Óculos e Avental, 9) Outros.

O grupo-controle foi composto por 10 indivíduos selecionados randomicamente dentro da população não exposta ao chumbo. Os doadores não apresentaram histórico médico de sintomas de doenças virais uso de medicamentos e exposição aos agentes químicos. A participação individual do grupo-controle também se deu de forma voluntária. Os integrantes deste grupo estavam cientes da proposta do estudo e, por ocasião da coleta das amostras biológicas, cada indivíduo preencheu um questionário e assinou um Termo de Consentimento Informado.

## Coleta das Amostras

A mucosa oral é formada pelo tecido epitelial pavimentoso estratificado não-queratinizado. Este tecido apoia-se sobre a membrana basal que, por sua vez, está apoiada a lâmina própria e constituído por várias camadas celulares. As células vão se achatando a partir da lâmina basal e diferenciam-se à medida que se aproximam da superfície da mucosa (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995). Assim, torna-se possível a coleta de células esfoliadas deste epitélio. As células coletadas foram do tecido epitelial estratificado não-queratinizado da mucosa oral, utilizando-se um abaixador de língua previamente umedecido em água.

## Confecção dos esfregaços, coloração e fixação das amostras

Os esfregaços das células da mucosa oral foram preparados em lâminas de vidro limpas e desengorduradas, de forma que as células ficassem espalhadas uniformemente e secando em temperatura ambiente. As lâminas foram fixadas em álcool a 98%. Após a fixação, as lâminas foram coradas em fúcsia por 15 minutos e *fast green* por 10 segundos. Para cada indivíduo foram preparadas duas lâminas.

## Análise Citogenética

Para a análise citogenética foram contadas 1.000 células para cada indivíduo. As alterações observadas foram anotadas e conferidas posteriormente.

## Análise estatística

Na análise estatística foram utilizados o teste *t* (student) para cálculo da significância e os testes de correlação para a comparação entre o grupo exposto e o grupo controle. Os cálculos foram desenvolvidos com o uso do programa Microsoft Excel 97®.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com relação aos hábitos, o grupo exposto apresentou 32% de fumantes, conforme indicado na Figura 1, entre eles tabagistas

crônicos há 30 anos. Este grupo apresentou uma frequência de alterações superior ao grupo de não tabagistas,  $64/10^3$  e  $57/10^3$  células respectivamente. O hábito de fumar é altamente deletério para as mucosas oral, nasal, vias aéreas e pulmões.

O consumo de álcool não se apresentou como hábito significativo no aumento da frequência de anomalias nucleares, apesar de 45% dos integrantes do grupo-teste serem etilistas, conforme indicado no Figura 2.

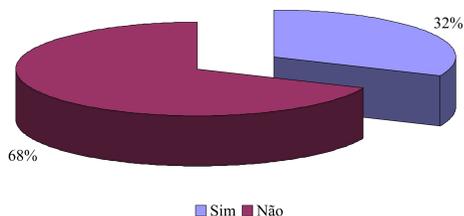


Figura 1: Percentual de Tabagistas entre o Grupo de Indivíduos Ocupacionalmente Exposto ao Chumbo

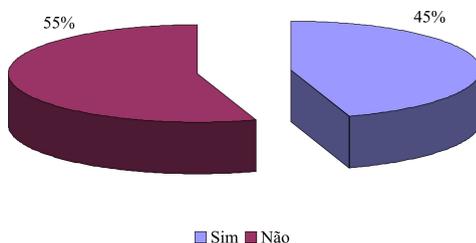


Figura 2: Percentual de Etilistas entre o Grupo de Indivíduos Ocupacionalmente Exposto ao Chumbo

Observou-se que no preparo de sucata e desmonte de baterias, a frequência de alterações é relativamente alta, principalmente as células binucleadas, provavelmente com relação à sua intensa exposição às partículas em suspensão no ambiente, onde poderiam estar presentes agentes mutagênicos, e ao seu contato direto com o chumbo presente nas baterias. Embora houvesse o hábito de utilizar equipamentos de proteção individual adequados, como luvas, jaleco e máscara, observou-se que tais equipamentos podem não apresentar um grau de proteção adequado para a função.

As anomalias nucleares observadas no grupo-controle e no grupo ocupacionalmente exposto são mostradas na Tabela 2.

Tabela 2: Anomalias Nucleares

Grupo	Sexo	Idade	N.º Céls	Mn	fMn	Be	fBe	Bn	FBn	Np	fNp	Total	Ftotal
1 – CP01	Masc	55	1000	0	0,000	2	0,002	5	0,005	0	0,000	7	0,007
1 – CP02	Masc	39	1125	0	0,000	2	0,002	1	0,001	0	0,000	3	0,003
1 – CP03	Masc	39	1055	0	0,000	2	0,002	7	0,006	2	0,002	11	0,010
1 – CP04	Masc	46	1048	1	0,001	3	0,003	2	0,002	0	0,000	6	0,006
1 – CP05	Masc	28	1000	0	0,000	2	0,002	1	0,001	0	0,000	3	0,003
1 – CP06	Masc	22	1063	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
1 – CP07	Masc	32	1000	4	0,004	10	0,010	2	0,002	1	0,001	17	0,017
1 – CP08	Masc	35	1159	0	0,000	0	0,000	3	0,002	0	0,000	3	0,002
1 – CP09	Masc	22	1000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
1 – CP10	Masc	23	1143	0	0,000	2	0,002	1	0,001	1	0,001	4	0,003
1 – CP11	Masc	21	1237	1	0,000	1	0,001	1	0,001	1	0,001	4	0,003
1 – CP12	Masc	22	1132	1	0,000	6	0,005	4	0,003	2	0,002	13	0,011
1 – CP13	Fem	20	1111	5	0,004	35	0,031	2	0,002	0	0,000	42	0,038
1 – CP14	Masc	20	1162	3	0,002	6	0,005	1	0,001	0	0,000	10	0,008
1 – CP15	Masc	21	1140	2	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	2	0,002
1 – CP16	Masc	16	1034	2	0,001	1	0,001	0	0,000	0	0,000	3	0,003
1 – CP17	Masc	41	1101	3	0,002	4	0,003	1	0,001	1	0,001	9	0,008
1 – CP18	Masc	40	1070	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
1 – CP19	Masc	25	1000	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,001
1 – CP20	Masc	46	1000	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,001
1 – CP21	Masc	27	1036	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
0 – GC01	Masc	39	1056	0	0,000	0	0,000	1	0,001	0	0,000	1	0,001
0 – GC02	Masc	39	1000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
0 – GC03	Masc	23	1000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
0 – GC04	Masc	40	1011	0	0,000	0	0,000	1	0,001	0	0,000	1	0,001
0 – GC05	Fem	22	1000	0	0,000	1	0,001	1	0,001	0	0,000	2	0,002
0 – GC06	Masc	48	1000	0	0,000	1	0,001	1	0,001	0	0,000	2	0,002
0 – GC07	Masc	21	1000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
0 – GC08	Masc	25	1000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
0 – GC09	Masc	52	1000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
0 – GC10	Masc	43	1070	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000

Legenda: 1 – Grupo exposto, 0 – Grupo controle, Masc – Masculino, Fem – Feminino, N.º Céls – Número de células analisadas, Mn – Micronúcleos, fMn – Frequência de Micronúcleos, Be – Broken eggs, fBe – Frequência de broken eggs, Bn – Células Bi-nucleadas, FBn – F – Frequência de Células Bi-nucleadas, Np – Núcleos Picnóticos, FNp – Frequência de Núcleos picnóticos, Total – total de alterações nucleares observadas, fTotal – Frequência total de alterações.

As funções de copeira e secretária apresentaram uma frequência de alterações seis vezes superior à média. Possivelmente por não utilizarem elas nenhum equipamento de proteção, individual e – como sua exposição era a mais elevada entre os funcionários – por freqüentarem todos os ambientes da fábrica.

A média da frequência de anomalias nucleares, micronúcleos, *broken egg*, células binucleadas e núcleos picnóticos, no grupo exposto e no grupo controle foi de  $6.10^{-3}$  e  $6.10^{-4}$  células, respectivamente.

A frequência de micronúcleos do grupo exposto e do grupo controle não apresentou nenhuma diferença estatisticamente significativa. A frequência média de micronúcleos do grupo ocupacionalmente exposto foi de  $1.10^{-3}$  células, o que denota nível baixo de alterações dentro deste grupo. Porém, determinados indivíduos apresentaram frequências elevadas de micronúcleos, na ordem de  $4.10^{-3}$  e  $5.10^{-3}$  células.

A Figura 1 mostra os principais biomarcadores de alterações citogenéticas observáveis nas células da mucosa oral dos indivíduos expostos ao chumbo.

As anomalias celulares que mais elevadas se apresentaram foram os *Broken egg* e as binucleações celulares. A frequência média de células binucleadas no grupo exposto e no grupo controle foi de  $1,3.10^{-3}$  e  $4.10^{-4}$ , respectivamente. A frequência média de *Broken egg* no grupo exposto foi de  $3,3.10^{-3}$ , ao passo que a frequência apresentada pelo grupo controle foi de  $2.10^{-4}$ , o que indica um alto grau de anomalias de origem citotóxica apresentado pelos indivíduos do grupo exposto ao chumbo.

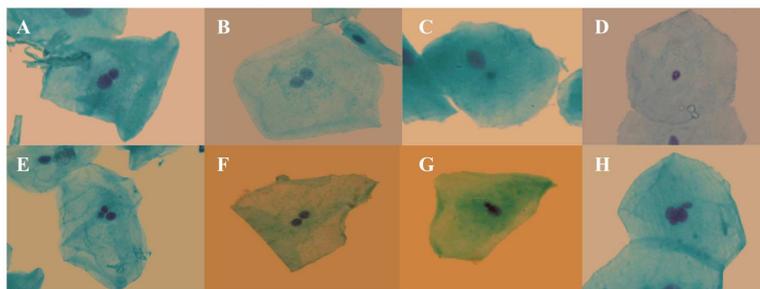


Figura 3: Principais Biomarcadores Observados no Estudo

Legenda: (A) Célula com núcleo em forma de *Broken egg*. (B) Célula binucleada. (C) Célula apresentando micronúcleo. (D) Célula com núcleo picnótico. (E) Célula binucleada com núcleo em forma de *Broken egg* (seta). (F) Célula binucleada. (G) Célula apresentando micronúcleo. (H) Células possivelmente sobrepostas, o que pode causar o confundimento na análise.

## CONCLUSÕES

Após toda a avaliação citogenética aplicada, observou-se que a frequência média de alterações nucleares, como micronúcleos, broken egg, células binucleadas e núcleos picnóticos, no grupo exposto e no grupo-controle foi de  $6.10^{-3}$  e  $6.10^{-4}$  células, respectivamente, apresentando um aumento de 10 vezes nos indivíduos expostos ao chumbo.

A frequência de micronúcleos do grupo exposto e do grupo-controle não apresentou nenhuma diferença estatisticamente significativa. A frequência média de micronúcleos do grupo ocupacionalmente exposto foi de  $1.10^{-3}$  células, denotando nível baixo de alterações dentro deste grupo. Porém, alguns indivíduos apresentaram frequências elevadas de micronúcleos, na ordem de  $4.10^{-3}$  e  $5.10^{-3}$  células.

As alterações nucleares que mais elevadas se apresentaram foram *Broken egg* e binucleações celulares. A frequência média de células binucleadas no grupo exposto e no grupo-controle foi de  $1,3.10^{-3}$  e  $4.10^{-4}$ , respectivamente. A frequência média de *Broken egg* no grupo exposto foi de  $3,3.10^{-3}$ , ao passo que a frequência apresentada pelo grupo controle foi de  $2.10^{-4}$ , o que indica um alto grau de alterações de origem citotóxica apresentado pelos indivíduos do grupo exposto ao chumbo.

Com o conhecimento de tais resultados, novas práticas de controle, como análise de amostras do ar (nas áreas de maior risco), a determinação da concentração de chumbo no sangue periférico dos funcionários, identificação das áreas de risco, estabelecimento de uma estratégia de amostragem, monitoramento individual, levantamento do histórico de exposição e apresentação dos resultados individual/coletiva podem ser adotados como ações preventivas que caracterizem um melhor monitoramento ambiental e biológico.

## Referências

ARAÚJO, U. C.; PIVETTA, F. R.; MOREIRA, J. C. Avaliação da Exposição ocupacional ao chumbo: proposta de uma estratégia de monitoramento para prevenção dos efeitos clínicos e subclínicos. *Cadernos de Saúde Pública*, v.15, n. 1, p.123-131, 1999.

AUDESIRK, G. Effects of lead exposure on the physiology of neurons. *Progress in Neurobiology*, v. 24, p.199-231,1985.

BLOCHING, M. et al. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aerodigestive tract using the MN-assay. *Oral Oncology*, v. 36, n. 5, p. 446-454, 2000.

CHAVES, S. R. et al. Frequência de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa oral de indivíduos ocupacionalmente expostos ao pó de mármore e granito. *Estudos Vida e Saúde*, n. 29, p. 19-32, 2002. Número Especial.

CORDEIRO, R.; LIMA-FILHO, E. C. A. Inadequação dos Valores dos Limites de Tolerância Biológica para a Prevenção da Intoxicação Profissional pelo chumbo no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 11, n.2, p.177-186, 1995.

DA CRUZ, A. D. et al. Human Micronucleus counts Are Correlated With Age Smoking And Cesium – 137 Dose In The Goiânia (Brazil) Radiological Accident. *Mutation Research Environmental*, v. 313, p. 57-58, 1994.

DA SILVA, C. C.; DA CRUZ, A.D. An Easy Prodecure For Cytogenetic Analysis of Aged Chromosome Preparations Using FISH – WCP Probes. *Chromosome Research*, v. 10, p. 233-238, 2002.

ERICSON, J. E.; SHIRAHATA, H.; PATTERSON, C. C. Skeletal concentrations of lead in ancient Piruvians. *New England Journal of Medicine*, v. 300, p. 946-951,1979.

GOMES, D. E. B.; MEDINA, H. V. Estudo sobre a reciclagem na indústria automotiva e sua inserção em um ambiente virtual de ensino. *Série Anais do IX JIC*, p. 84-93, 2001.

GRANDJAN, P.; NIELSEN, O. V.; SHAPIRO, I. M. Lead retention in ancient Nubian and contemporary populations. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, v. 2, p. 781- 791. 1979.

HIRVONEM, A. Genetic Factors in Individual Responses to Enviromental Exposures. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, v.1, p.37-43, 1995.

JUNQUEIRA, C. C.; CARNEIRO, J. Tecido Epitelial. In: *Histologia Básica*. 8. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 1995. p. 46-48.

KAYAL, J. J. et al. Incidence of micronuclei in oral mucusa of users of tobacco products singly or in various combinations. *Mutagenesis*, v. 8, p. 31-33, 1993.

MAJER, B. J. et al. Use of the Micronuclei Assay With Exfoliated Epithelial Cells as a Biomarker For Monitoring Individual at Elevated Risk of Genetic Damage and In Chemoprevention Trial . *Mutation Research*, v. 489, p.147-172, 2001.

MOROZUMI, M. Chemical concentration of pollutant lead aerosols, terrestrial dust, and sea salts in Greenland and Antarctic snow strata. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 33, p.1247-1251, 1969.

NAIR, U. et al. Evaluation of Frequency of Micronucleated Oral Mucosa Cells as a Marker for Genotoxic Damage in Chewers of Betel Quid with or without Tobacco. *Mutation Research*, v. 261, p.163-168,1991.

PRASAD, M. P. R.; MUKUNDAN, M. A.; KRISHNAWANY, K. Micronuclei and Carcinogen DNA Adducts as Intermediate and Point in Nutrient Intervention Trial of Precancerous Lesions in the Oral Cavity. *Oral Oncology, E'urj Cancer*, v. 31B, p. 155-159, 1995.

QUITERIO, S. L. et al. Controle das emissões de chumbo particulado no entorno de uma reformadora de baterias da cidade do Rio de Janeiro usando ar como indicador. *Cadernos Saúde Pública*, v.19, n. 2, p. 475-480, 2003.

RABELLO-GAY, M. N. et al. In: Metagênese, carcinogênese e teratogênese – métodos e critérios de avaliação. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991.

SANTOS-MELLO AND CAVALCANTE, B. Cytogenetics studies on gas station attendants. *Mutation Research*, v. 280, p.285-290, 1992.

SHAPIRO, I. M.; MITCHEL, G; DAVIDSON, I. The lead content of teeth: evidence establishing new minimal levels of exposure in a living pré-industrialized human population. *Archives of Environmental Health*, v. 30, p. 483-489, 1975.

CHAVES, S.R. Avaliação da frequência de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa bucal de indivíduos ocupacionalmente expostos ao pó de mármore e granito. Goiânia: [s.n.], p 23, 1999.

SOUTO, R. et al. O Teste de Micronúcleo como Ferramenta Qualitativa de Dano Genético: Aspectos Citotécnicos. *Revista Estudos Vida e Saúde*, 2003. (in press).

SPINOLA, A. G. et al. (Ed.). Intoxicação profissional por chumbo. In: *MEDICINA do Trabalho – Doenças Profissionais*. São Paulo: Sarvier, 1980. p. 437-460.

STICH, H. F.; CURTIS, J. R.; PARIDA, B. B. Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *International Journal of Cancer*, v.30, p.553-559, 1982.

TOLBERT, P. E.; SHY, C. M.; ALLEN, J. W. Micronuclei And Other Nuclear Anomalies In Buccal Smears: A Fied Test In Snuff Users. *American Journal of Epidemiology*, v. 134, p. 840-850, 1991.

WINDEBANK, A. J. Mental Neuropathy. In: DYCK, P. J. et al. (Ed.). *Peripheral Neuropathy*. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1993. p. 1549-1570.

*Abstract: present study evaluates cytogenetically individuals exposed to lead on their works. Data was collected and analysis was performed to estimate main nuclear alterations. A control group was used to correlate differences between exposed group.*

*Standard protocol were adopted to collect and counting cells. Micronuclei test was used to determinate the frequency of cytotoxic and genotoxic alterations. Besides than micronuclei others alterations like broken-eggs, binucleated cells and piknotic nuclei are good markers of cell alterations cause they are resulted from cytotoxic events frequently related to occupational exposure. Behaviors like tabagism, etilism and exposition time were also investigated to correlate cells alterations. The correlation between micronuclei frequencies of exposed and control group test could not be performed due to control group did not present this kind of alteration. Broken egg and binucleated cells were the most observed anomalies with frequencies respectively 3.5 and 16.5 higher on exposed group than control group that indicates a high grade of cytotoxic anomalies on lead exposed individuals.*

**Key words:** *Cytogenetics, Occupational exposition, Lead, Micronuclei, Broken-egg.*

**FLÁVIA DE CASTRO PEREIRA**

Especialista em Educação Ambiental pela Universidade Católica de Goiás (UCG). Pesquisadora do Laboratório de Genética Molecular e Citogenética da Universidade Federal de Goiás (UFG). *E-mail:* fcpereira@gmail.com

**FABÍOLA LEIDE TEIXEIRA DOS SANTOS**

Especialista em Educação Ambiental pela UCG. *E-mail:* flteixeiradossantos@gmail.com

**CESAR AUGUSTO SAM TIAGO VILANOVA-COSTA**

Mestre em Biologia Celular e Molecular pela UFG. Pesquisador do Núcleo de Pesquisas Replicon na UCG. Pesquisador do Laboratório de Genética Molecular e Citogenética na UFG. *E-mail:* vilanovacosta@gmail.com

**CLÁUDIO CARLOS DA SILVA**

Professor Mestre na UCG. Pesquisador do Núcleo de Pesquisas Replicon na UCG. *E-mail:* dasilva@ucg.br

**APARECIDO DIVINO DA CRUZ, PH.D.**

Professor Doutor na UCG. Pesquisador e Coordenador do Núcleo de Pesquisas Replicon na UCG. Pesquisador do Registro de Câncer de Base Populacional, AACG. Coordenador do Laboratório de Biologia Molecular e Citogenética Humana, SuLeide, SeS/Go. *E-mail:* acruz@ucg.br