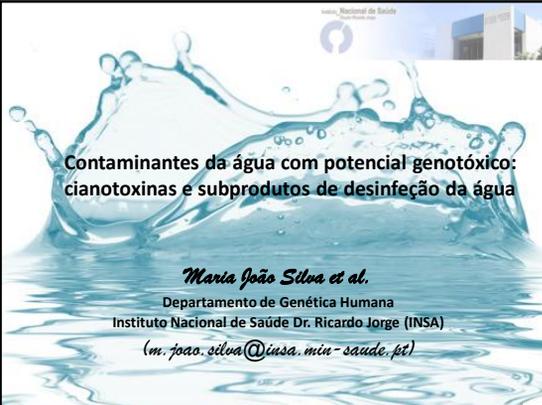


www. Instituto de Saúde
 Instituto Nacional de Saúde



Contaminantes da água com potencial genotóxico: cianotoxinas e subprodutos de desinfecção da água

Maria João Silva et al.
 Departamento de Genética Humana
 Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA)
 (m.joao.silva@insa.min-saude.pt)

Riscos Ambientais e Qualidade do Ar, 08.11.2012

A água é um bem essencial que importa preservar



Em todo o mundo, cerca de 2 biliões de pessoas bebem água contaminada que pode ter efeitos nocivos para a sua saúde!

2

Poluição do meio aquático – origem e fontes

✓ *Fatores de origem antropogénica e/ou natural*

FONTES PONTUAIS
 > Descarga de águas residuais urbanas
 > Descarga de efluentes Industriais
 > Descarga de efluentes de explorações pecuárias

FONTES DIFUSAS
 > Resultantes de atividades agrícolas
 > Erosão dos solos
 > Deposição de poluentes atmosféricos

FONTES MISTAS
 > Escorrências de origem urbana
 > Escorrências de locais de acumulação de resíduos (licheiras, escombros)



Poluição do meio aquático - contaminantes

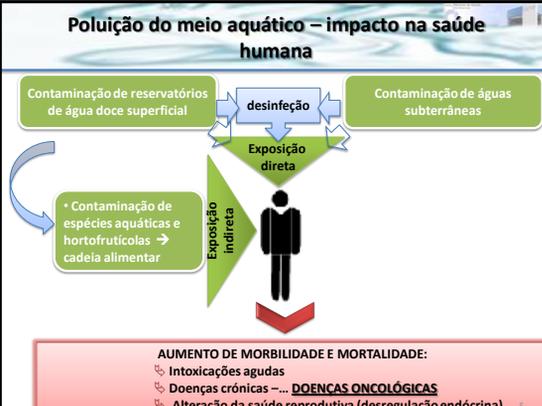
✓ **Biológicos**
 • Bactérias, cianobactérias, virus, protozoários

✓ **Compostos químicos:**
 • Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs)
 • Metais e metalóides (Pb, Hg, As...)
 • Pesticidas e fertilizantes
 • **Toxinas**
 • ...

✓ **Agentes físicos**
 • Radioatividade (resíduos radioactivos)

4

Poluição do meio aquático – impacto na saúde humana



Contaminação de reservatórios de água doce superficial → desinfeção → Contaminação de águas subterrâneas

Exposição direta → Pessoa

Contaminação de espécies aquáticas e hortofrutícolas → cadeia alimentar → Exposição indireta → Pessoa

AUMENTO DE MORBILIDADE E MORTALIDADE:
 • Intoxicações agudas
 • Doenças crónicas –... **DOENÇAS ONCOLÓGICAS**
 • Alteração da saúde reprodutiva (desregulação endócrina)

5

Agentes químicos, físicos e biológicos

↓

Lesão primária do DNA

↓

Reparação | Replicação | Apoptose

Reparação Eficiente/Fiel → Estabilidade Genética

Reparação deficiente ou errónea → **MUTAÇÃO**

Mutações génicas → **CANCRO**

Mutações génicas → **ENVELHECIMENTO**

Mutações génicas → **Anomalias cromossómicas**

DOENÇAS GENÉTICAS NA DESCENDÊNCIA

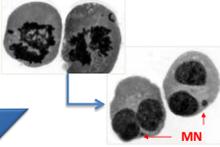
6

A MCLR é genotóxica?

Ensaio do cometa



Micronúcleo *in vitro*



Células VERO-E6 HepG2

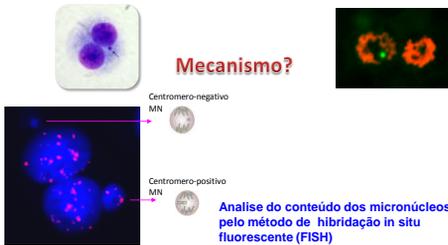
Quebras ou perda de cromossomas

Combinação que permite de uma forma sensível e rápida caracterizar a atividade genotóxica da maioria dos xenobióticos

A MCLR induz a formação de micronúcleos em células derivadas de rim e de fígado

A MCLR induz a formação de micronúcleos em reticulócitos de ratinho

Mecanismo?

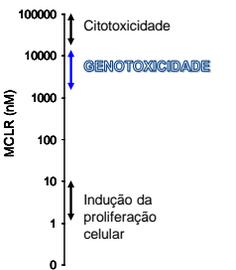


Centromero-negativo MN
Centromero-positivo MN

Análise do conteúdo dos micronúcleos pelo método de hibridação *in situ* fluorescente (FISH)

A genotoxicidade da MCLR pode ocorrer através dos mecanismos de aneuploidia e clastogénese

A MCLR é citotóxica e genotóxica



Em linhas celulares hepáticas e renais (Ensaio do micronúcleo)

In vivo, em reticulócitos de ratinho

↓

Envolvimento de mecanismos de quebra e perda cromossómica

MCLR – potencial efeito cancerígeno

Toxicidade crónica

MCLR

↑ stress oxidativo

Lesões no DNA (?)

Quebras cromossómicas (mecanismo clastogénico)

Instabilidade do genoma

Genotóxica

CARCINOGENESE

Toxicidade aguda

MCLR

Inibição das fosfatases proteicas PP1/PP2A

Alteração do citoesqueleto

Perturbação do fuso mitótico

Perda cromossómica (mecanismo aneuploidia)

Hipótese: MCLR → Reparação de lesões no DNA → Lesões no DNA (?) → Quebras cromossómicas → Instabilidade do genoma → CARCINOGENESE

Hipótese: MCLR → Inibição das fosfatases proteicas → Alteração do citoesqueleto → Perturbação do fuso mitótico → Perda cromossómica → CARCINOGENESE

Hipótese: MCLR → Promotor tumoral → Instabilidade do genoma → CARCINOGENESE

1. POTENCIAL GENOTÓXICO DE DERIVADOS CLORADOS DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (Cl-PAH)

Marlene Rebola (MsC Thesis), Miguel Pinto, Sílvia Santos José, Ana Sofia Cardoso, Alexandra M.M. Antunes, Maria João Silva

Formação de subprodutos de desinfecção da água (DBPs)

O cloro é o desinfetante mais utilizado no tratamento das águas para abastecimento

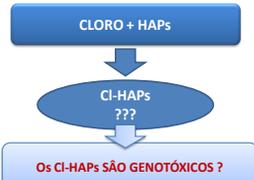
CLORO + MATÉRIA ORGÂNICA



Acetonitriles halogenated, hidrato de cloral, fenóis clorados...
Trihalometanos
DBPs não identificados (~50%)
GENOTÓXICOS E CARCINOGENÉTICOS (Cancro bexiga e cólon)

Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HAPs)

- Resultam de processos de **combustão incompleta**
- Maioria são **genotóxicos e carcinogénicos**
- São associados a diversas formas de cancro (pulmões, bexiga, tracto gastrointestinal)
- Podem contaminar a água – descargas de efluentes industriais ou municipais, incêndios florestais e escorrências de solos contaminados

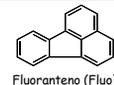
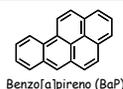


19

Derivados clorados de HAPs (Cl-HAPs)

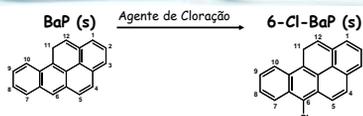
- HAPs com um ou mais átomos de cloro associados aos anéis aromáticos
- Podem formar-se em água para consumo humano durante o processo de cloragem (Oyler *et al.*, 1983)

- Formação de derivados clorados do benzo[a]pireno e fluoranteno?
- Efeitos genotóxicos?



20

Síntese e caracterização de 6-Cl-BaP



- GC-MS
- Espectro de Fluorescência (Emissão e Excitação)
- ¹H-NMR e NMR bidimensionais (COSY)

Análise comparativa de efeitos genotóxicos dos Cl-HAPs



Ensaio do cometa, em células HepG2 (hepatoma humano)

21

Conclusões

✓ Apesar da desinfecção da água ser absolutamente essencial para prevenir doenças infecciosas, a evidência de que se formam DBPs cujos efeitos ainda são desconhecidos deve estimular:

- Desenvolvimento de metodologias que permitem detectar derivados clorados de HAPs na ordem dos nanograma por litro
- Carcaterização de potenciais efeitos genotóxicos desses derivados
- Desenvolvimento de métodos alternativos à cloragem, igualmente eficazes mas mais seguros.

22

Agradecimentos

CQE-Instituto Sup. Técnico:

Alexandra Antunes

INSA

Dept. Saúde Ambiental:

Ana Sofia Cardoso

Sílvia Santos José

Raquel Rocha

Elsa Dias

Paulo Pereira

Marlene Rebola

Dept. Genética Humana:

Telma Santos

Miguel Pinto

Henriqueta Louro

Maria João Silva

FCT

FCT, SFRH/BD/10585/2002

23



24