

Estudo do potencial genotóxico do formaldeído em contexto profissional: projeto GenFA

Solange Costa¹, Carla Costa¹, Patrícia Coelho¹, Susana Silva¹,
Lívia Aguiar¹, Beatriz Porto², João Paulo Teixeira¹

solange.costa@insa.min-saude.pt

(1) Unidade do Ar e Saúde Ocupacional. Departamento de Saúde Ambiental, INSA, Porto.

(2) Laboratório de Citogenética. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

Introdução

O Formaldeído (FA) é um dos compostos químicos mais utilizados em todo o mundo, apresentando-se, em condições normais de pressão e temperatura, como um gás incolor de odor característico e intenso. A sua aplicação é multifacetada e transversal a praticamente todas as atividades, sendo que a exposição humana a este composto assume particular importância a nível industrial e no sector da saúde, onde é bastante utilizado. Ao longo das últimas duas décadas vários estudos epidemiológicos revelaram uma associação entre a exposição ocupacional a este aldeído e incidência de cancro nasofaríngeo e leucemia (do tipo mieloide) entre trabalhadores do sector industrial e da saúde (1-4). Com base nestes estudos e em dados obtidos em ensaios experimentais com animais, o estatuto de carcinogenicidade do FA foi revisto pelas principais agências mundiais de saúde e recentemente reclassificado como agente carcinogénico humano (5-7). No entanto, alguns investigadores defendem que não há dados biológicos suficientes para assumir uma relação causal entre a exposição a FA e o risco de leucemia, dada a reactividade do composto que limitará o seu efeito ao local de primeiro contacto (nariz e boca) (8-10). O potencial genotóxico do FA está largamente descrito tanto *in vitro* como *in vivo*, de bactérias até roedores (7). No entanto, em estudos de biomonitorização humana, o carácter genotóxico do FA é inconclusivo, e carece de mais investigação em especial no que concerne ao seu efeito em tecidos distantes do local de absorção. Vários estudos, nacionais e internacionais, apontam os laboratórios de anatomia patológica como sendo um dos cenários ocupacionais em que os trabalhadores estão expostos a níveis de FA que exce-

dem os valores limites regulamentados (11-15). Nestes laboratórios decorrem atividades que implicam a libertação de vapores de FA pela utilização de formol (solução aquosa de FA). Este produto é um fixador de tecidos bastante eficiente, sendo, por isso, o eleito em procedimentos de rotina anatomopatológicos. A principal via de entrada do FA no organismo é a inalatória, atingindo sobretudo as vias respiratórias superiores.

Objetivo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a exposição ocupacional a FA em profissionais dos Serviços Hospitalares de Anatomia Patológica, utilizando para isso uma abordagem múltipla de modo a relacionar diferentes tipos de biomarcadores de dose e efeito. A integração dos resultados dos diferentes biomarcadores estudados permitir-nos-á investigar a relação entre a exposição ao FA e possíveis efeitos biológicos adversos, consequentes da exposição profissional a este composto. O conjunto de dados reunidos contribui para a caracterização da exposição a FA num contexto profissional específico, podendo, deste modo, revelar-se particularmente útil para reforçar a necessidade de alterar as práticas de trabalho de forma a salvaguardar a saúde dos profissionais. Por outro lado, a informação recolhida será útil para as entidades responsáveis em definir os níveis aceitáveis para a exposição ocupacional a FA e para os serviços que têm a seu cargo a vigilância da saúde dos trabalhadores.

Material e métodos

Foi estudada uma população de 85 profissionais dos Serviços Hospitalares de Anatomia Patológica, expostos ao FA no seu ambiente de trabalho e 87 indivíduos com historial ocupacional de não exposição ao FA e com características demográficas, de idade, sexo, hábitos tabágicos e dieta semelhantes ao grupo exposto.

As características sociodemográficas dos dois grupos estudados, controlo e exposto, estão descritas na **tabela 1**. Todos os indivíduos que aceitaram participar no estudo foram informados e esclarecidos dos objetivos do trabalho em curso e, após terem manifestado o seu consentimento por escrito, respeitando a Declaração de Helsínquia de 1975 revista em 1989 responderam a um inquérito epidemiológico visando a avaliação de factores sociodemográficos e outros

potenciais factores de risco associados com a exposição a compostos reconhecidos como cancerígenos (hábitos tabágicos, Raios X, entre outros). Os indivíduos do grupo exposto responderam, ainda, a um inquérito contendo questões relacionadas com a sua actividade laboral (uso de equipamento de protecção individual, anos de actividade profissional, entre outros).

Tabela 1: Características da população estudada.

	Controlos (n=87)	Expostos (n=85)	p-value
Género			0.921 ^b
Feminino	67 (77%)	66 (78%)	
Masculino	20 (23%)	19 (22%)	
Idade (anos) ^a	38.9 ± 11.0	39.8 ± 9.5	0.571 ^c
Anos de trabalho ^a		12.0 ± 8.2	
Hábitos tabágicos			
Não-fumadores	65 (75%)	64 (75%)	
Fumadores	22 (25%)	21 (25%)	
Anos fumador ^a	21.7 ± 11.3	20.4 ± 11.0	0.704 ^c
Cigarros/dia ^a	13.7 ± 6.9	11.0 ± 5.8	0.160 ^c
Maço/ano ^a	14.8 ± 11.5	11.2 ± 8.1	0.248 ^c

^a Média ^b Teste Qui-quadrado (bilateral) ^c Teste t- Student ± Desvio padrão

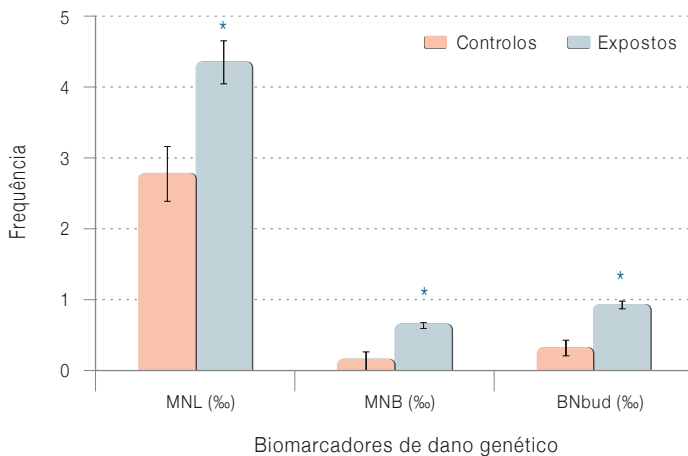
A avaliação da exposição ocupacional a FA foi realizada pela medição da concentração do FA no ar no local de trabalho e pela análise de diferentes indicadores biológicos. Para estimar o nível de exposição do FA nos Serviços de Anatomia Patológica recorreu-se à amostragem contínua de ar no posto de trabalho, representativa do ar inalado pelos trabalhadores e ao cálculo da concentração média ponderada (TWA) expressa em ppm, tendo em conta a jornada de trabalho. Os níveis de ácido fórmico na urina foram quantificados (mg/g creatinina), por forma a estudar a sua potencial aplicação como biomarcador de dose interna de exposição ocupacional a FA. O estudo do dano genético foi avaliado em linfócitos do sangue periférico através de diversos biomarcadores de efeito, nomeadamente alterações citogenéticas, como formação de micronúcleos (MN) avaliada em 1000 células binucleadas/indivíduo (%) e trocas entre cromátídeos irmãos (SCE) analisadas 50 metáfases/indivíduo

e dano a nível do ADN, mediante o teste do cometa (% de ADN na cauda). A frequência de MN em células da mucosa bucal foi contabilizada em 2000 células diferenciadas/indivíduo, a média foi estimada em 1000. A frequência de protusões nucleares (BNbuds) também foi analisada nas células da mucosa bucal. As alterações citogenéticas encontram-se entre os biomarcadores de efeito mais utilizados em estudos de biomonitorização humana, estando largamente documentado o seu papel como preditores de possíveis efeitos nocivos na saúde resultantes da exposição a genotóxicos (16-18), sobretudo do risco de ocorrência futura de cancro, como é exemplo a frequência de MN em linfócitos humanos (19).

_Resultados

Para o grupo de trabalhadores estudados, tendo em conta a jornada de trabalho obteve-se um valor médio de exposição ao FA de 0.38 ± 0.03 ppm. O grupo exposto apresentou em média valores urinários de ácido fórmico (mg/g creatinina) estatisticamente superiores ao grupo controlo (17.46 ± 1.33 vs. 11.53 ± 0.95), no entanto não foi observada associação com os níveis de exposição no ar. Os resultados obtidos para os indicadores biológicos de genotoxicidade revelaram que os indivíduos expostos apresentaram, em média, maior dano genético comparativamente aos indivíduos do grupo controlo. Foi observado no grupo exposto em relação ao controlo um aumento significativo na frequência de SCE/célula (5.08 ± 0.12 vs. 4.01 ± 0.11) e na % de ADN na cauda, indicador de dano no ADN (11.67 ± 0.72 vs. 7.50 ± 0.47). Observou-se ainda, nos trabalhadores, um aumento significativo na frequência de MN% em linfócitos (MNL) e em células da mucosa bucal (MNB) (gráfico 1). Foram encontradas associações (positivas) estatisticamente significativas entre a frequência de MN em ambos os tecidos (r=0.359, p<0.001), a duração (MN em linfócitos; r=0.277, p=0.011) e os níveis de exposição a FA (MN bucais; r=0.407, p=0.001), o que confirma a sensibilidade deste biomarcador para avaliar o efeito genotóxico do FA em indivíduos ocupacionalmente expostos. Nas células bucais dos indivíduos expostos foi também encontrado um aumento significativo de BNbuds comparativamente com os controlos. Dados recentes indicam que a formação de BNbuds está associada ao mecanismo que a célula usa para remover o material genético amplificado ou em excesso; os BNbuds servem por isso de bioindicadores de amplificação genética ou de alteração de carga genética celular (20).

Gráfico 1: ↓ Frequência no grupo controlo e exposto de micronúcleos em linfócitos (MNL) e de micronúcleos (MNB) e protusões nucleares (BNbud) em células epiteliais da mucosa bucal.



* $p < 0.001$, significativamente diferente do grupo controlo, Mann-Whitney U-test.

Discussão e conclusão

No presente estudo constatou-se que os profissionais dos Serviços de Anatomia Patológica estão em média expostos a níveis de FA que excedem valores recomendados internacionalmente (0.3 ppm) e pelo Comité Científico em matéria de Limites de Exposição Ocupacional mandatado pela Comissão Europeia (0.2 ppm) (6, 21). A exposição dos profissionais a vapores de FA ocorre principalmente durante o exame macroscópico das peças cirúrgicas conservadas em formol (registo das peças) e no despejo desse mesmo formol aquando da eliminação das peças para posterior tratamento como resíduos hospitalares (despejo e lavagem das peças).

No grupo estudado foi observado um aumento significativo na frequência de biomarcadores de dano genético comparativamente com o grupo controlo. No caso dos MN, o aumento foi observado quer em células de tecido alvo (boca) quer em células-sentinela (linfócitos de sangue periférico), tendo sido encontrada uma associação positiva e significativa na formação de MN em ambos os tecidos. Significam estes resultados que o FA inalado induziu o mesmo tipo de dano no local de primeiro contacto e em células de circulação sistémica (linfócitos) o que vem reforçar a plausibilidade biológica da exposição humana a FA induzir dano genotóxico em outros tecidos para além do tecido de primeiro contacto, nomeadamente em células-sentinela como os linfócitos.

Face ao exposto, torna-se necessário tomar medidas de controlo. A primeira abordagem no controlo da exposição a um produto químico perigoso é analisar a possibilidade da sua substituição. Na sua impossibilidade, devem adotar-se medidas que reduzam ao mínimo o risco de exposição profissional, nomeadamente a implementação de boas práticas de trabalho e a formação dos trabalhadores nesses princípios. Os trabalhadores deverão também ser informados sobre a correta utilização dos meios de prevenção (coletiva e individual) e sua manutenção, de modo a minimizar os riscos inerentes às suas atividades. Paralelamente deverá proceder-se a melhorias nos locais de trabalho nomeadamente no que diz respeito às condições de exaustão, ventilação e climatização nos laboratórios de registo e despejo de peças bem como nas salas de reservas de peças (caso sejam usados armários recomenda-se que sejam ventilados). No caso da tarefa de despejo de peças é possível reduzir ou mesmo eliminar a exposição por contratação de serviços especializados na eliminação de resíduos hospitalares no qual se procede à entrega dos contentores de reserva. Deve ser também assegurado um programa de vigilância da saúde dos trabalhadores que permita uma avaliação contínua dos riscos na saúde de natureza profissional e subsidie medidas e ações preventivas adequadas ao controle da exposição.

Financiamento

Este projeto foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FTC) (ref: SFRH/BD/46929/2008 e PTDC/SAU-ESA/102367/2008) e pelo Programa Operacional Potencial Humano do Quadro de Referência Estratégico Nacional para Portugal 2007-2013 (tipo 4.1).

Referências bibliográficas:

- (1) Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, et al. Mortality from solid cancers among workers in formaldehyde industries. *Am J Epidemiol*. 2004;159(12):1117-30. [LINK](#)
- (2) Beane Freeman LE, Blair A, Lubin JH, et al. Mortality from solid tumors among workers in formaldehyde industries: an update of the NCI cohort. *Am J Ind Med*. 2013;56(9):1015-26.
- (3) Hauptmann M, Stewart PA, Lubin JH, et al. Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(24):1696-708. [LINK](#)
- (4) Zhang L, Steinmaus C, Eastmond DA, et al. Formaldehyde exposure and leukemia: a new meta-analysis and potential mechanisms. *Mutat Res*. 2009;681(2-3):150-68.
- (5) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxy-2-propanol. Lyon: WHO/IARC, 2006:39-325 pp. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human; 88). [LINK](#)
- (6) NTP 12th Report on Carcinogens. Washington. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, 2011:195-205 pp.

artigos breves_ n. 9

- (7) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. A review of human carcinogens. Part F: Chemical agents and related occupations. Lyon: WHO/IARC, 2012: 401-435 pp. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human; 100F). [LINK](#)
- (8) Heck Hd, Casanova M. The implausibility of leukemia induction by formaldehyde: a critical review of the biological evidence on distant-site toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2004;40(2):92-106.
- (9) Franks SJ. A mathematical model for the absorption and metabolism of formaldehyde vapour by humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;206(3):309-20.
- (10) Speit G. The implausibility of systemic genotoxic effects measured by the comet assay in rats exposed to formaldehyde. *J Proteome Res.* 2006;5(10):2523-4.
- (11) Keil CB, Akbar-Khazandeh F, Konecny KA. Characterizing formaldehyde emission rates in a gross anatomy laboratory. *Appl Occup Environ Hyg.* 2001;16(10):967-72.
- (12) Viegas S, Ladeira C, Nunes C, et al. Genotoxic effects in occupational exposure to formaldehyde: a study in anatomy and pathology laboratories and formaldehyde-resins production. *J Occup Med Toxicol.* 2010;5(1):25. [LINK](#)
- (13) Ladeira C, Viegas S, Carolino E, et al. Genotoxicity biomarkers in occupational exposure to formaldehyde--the case of histopathology laboratories. *Mutat Res.* 2011;721(1):15-20.
- (14) Shaham J, Gurvich R, Kaufman Z. Sister chromatid exchange in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res.* 2002;514(1-2):115-23.
- (15) Costa S, Coelho P, Costa C, Silva S, Mayan O, Santos LS, Gaspar J, Teixeira JP. Genotoxic damage in pathology anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde. *Toxicology.* 2008;252(1-3):40-8.
- (16) Farmer PB, Sepai O, Lawrence R, et al. Biomonitoring human exposure to environmental carcinogenic chemicals. *Mutagenesis.* 1996;11(4):363-81.
- (17) Norppa H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. *Toxicol Lett.* 2004;149(1-3):309-34.
- (18) Garaj-Vrhovac V, Durinec M, Kopjar N, et al. A survey on the cytogenetic status of the Croatian general population by use of the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutat Res.* 2008;649(1-2):91-100. Epub 2007 Sep 12.
- (19) Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007; 28(3):625-31. Epub 2006 Sep 14. [LINK](#)
- (20) Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan AT, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis.* 2011;26(1):125-32.
- (21) European Commission. Scientific Committee on Occupational Exposure Limit Values. Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Formaldehyde. Brussels: SCOEL, 2008. (SCOEL/SUM/125). [LINK](#)