

# TESTE DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS NO BIOMONITORAMENTO DE RISCO OCUPACIONAL DE TRABALHADORES DE CURTUMES DE TERESINA-PI EXPOSTOS AO CROMO

*Luana de Oliveira Lopes (bolsista do PIBIC/UFPI), Ana Amélia de C. Melo Cavalcante (Colaborador-LACEN-PI); Fabrício Pires de Moura do Amaral (Colaborador-LACEN-PI); Sandra Maria Mendes de Moura Dantas (Orientadora- Depto. De Biologia UFPI)*

## 1 INTRODUÇÃO

O cromo trivalente Cr(III) é usado em diversas áreas das indústrias como: soluções de limpeza de vidros, cromagem, preservação de madeira, produção de pigmentos e nos curtumes (MEIBIAN *et. al.*, 2008). Estudos toxicológicos recentes têm mostrado que o Cr(III) provoca desordens esqueléticas e neurológicas, pois este elemento pode formar adutos que interagem com biomoléculas dentro da célula, além de sofrerem processos de redução/oxidação que levam à mudanças na estrutura e função das biomoléculas, prejudicando os processos metabólico (RAJA&NAIR, 2008).

Os biomarcadores citogenéticos em linfócitos de sangue periférico, como as aberrações cromossômicas, são largamente utilizados na avaliação de riscos em humanos expostos à agentes mutagênicos e carcinogênicos, tão bem quanto testes clínicos (GHOSH *et. al.*, 2007). O objetivo deste estudo é a obtenção de dados relevantes da taxa de dano causado pela exposição ao Cr(III) no material genético de trabalhadores de curtumes do município de Teresina-PI.

Palavras-chave: Aberrações cromossômicas. Risco ocupacional. Cromo III.

## 2 METODOLOGIA

A população alvo é composta de 52 trabalhadores divididos em dois grupos: Grupo expostos: 32 trabalhadores expostos ao cromo nos curtume e Grupo Não expostos: 20 trabalhadores que não estão expostos a agentes físicos ou químicos. Para a cultura de linfócitos foi coletado cerca de 5 ml de sangue periférico de cada indivíduo, através de punção venosa com seringa estéril descartável, previamente heparinizada (heparina sódica 5000 U/ml). A coleta do sangue era realizada no curtume geralmente no período da manhã e em seguida o material coletado era transportado para o laboratório de citogenética e genética toxicológica da UFPI para a realização do teste de AC. Para cada indivíduo foram reservadas três garrafas contendo 5 ml de meio de cultura completo para cariótipo aos quais foram adicionadas 18 gotas de sangue total e incubados em estufa de 37 °C por 72 horas. Após 71 horas de incubação, seguiu-se a colchicina em cada frasco de cultura (0,1ml de colchicina 0.75 µg/ml). Após uma hora, a cultura foi transferida para um tubo de centrifuga de 10 ml estéril e em seguida procedeu-se centrifugação a 1000 rpm por 5 minutos. Decorrido esse tempo, o sobrenadante foi descartado e ao sedimento foi adicionado 5ml de solução de KCL a (0,075 M) durante 10 minutos a 37°C. Após este tempo centrifugou-se o material e o sobrenadante foi descartado. Procedeu-se então o processo de fixação do material, com fixador carnoy (metanol/acético 3:1). Para a preparação das lâminas foram realizadas três trocas de fixador (preparado pouco tempo antes, e mantido fresco) e centrifugação por 5 minutos a 1000 rpm. Após a última lavagem o sobrenadante foi retirado, e procedeu-se a preparação das lâminas. O material para

análise foi preparado, pingando-se uma a duas gotas da solução (de acordo com a concentração da solução) em lâminas previamente limpas e aquecidas. De três a cinco lâminas foram preparadas para cada indivíduo. Após secagem das lâminas à temperatura ambiente ou à 37°C em estufa de secagem, as lâminas prontas foram coradas com solução de Giemsa (Giemsa/Tampão Sorensen 30:1) cobrindo toda a superfície da lâmina com uma camada uniforme por 10 minutos (coloração convencional). Após este tempo, as lâminas foram lavadas em água destilada e secas à temperatura ambiente. Foram analisadas e fotografadas em teste cego ao microscópio de luz na objetiva de 100X, mais de 500 células por indivíduos, das quais pelo menos 100 estavam em fase de metáfase. O percentual de AC foi expresso pelo número de AC/número de células, segundo Albertini *et. al.* (2000). As AC (quebras, deleções, fragmentos, cromossomos dicêntrico, cromossomos tricêntricos, anéis e anéis acêntricos) foram classificadas de acordo com Savage (1976). A Análise estatística dos grupos testes foi realizada com o programa Graphpad Prism 5.0 com análise de variância (ANOVA) e aplicação do Teste t Student's para comparação com os dados dos trabalhadores não expostos. Para a caracterização da população em estudo e para as correlações com os fatores epidemiológicos os dados foram processados no SPSS (versão 10).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos tipos de aberrações cromossômicas estruturais dados significantes foram encontrados para cromossomos tricêntricos ( $P < 0,01$ ), anéis ( $P < 0,0001$ ) e anéis acêntricos ( $P < 0,01$ ). . Diferenças significantes ( $P < 0,0001$ ) na frequência de AC foram observadas entre os trabalhadores expostos ( $4,25 \pm 0,87$ ) a mistura complexa contendo cromo, em relação aos trabalhadores não expostos ( $0,33 \pm 0,09$ ), conforme mostra a Figura 1. Entretanto dados não significantes ( $P > 0,05$ ) foram encontrados em relação ao % de metáfase (índice metafásico).

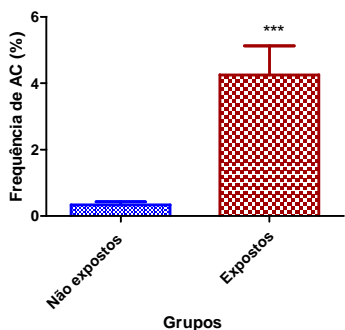


Figura 1. Mutagenicidade observada pela frequência de aberrações cromossômicas em trabalhadores expostos a químicos mutagênicos em indústria de curtume da cidade de Tereina-Pi, anos de 2009 e 2010. Diferenças significantes em \*\*\* $P < 0,0001$  em relação ao trabalhadores não expostos, observadas com o Teste t Studentt's.

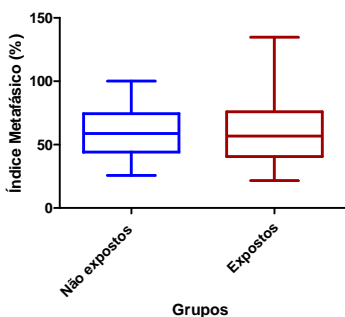


Figura 2. Índice metafásico em trabalhadores expostos a químicos mutagênicos em indústria de curtume da cidade de Tereina-Pi, anos de 2009 e 2010. Diferenças não significantes entre os grupos, observadas com o Teste t Studentt's.

Os resultados do presente estudo sugerem uma relação positiva entre a indução de aberrações cromossômicas em cultura de linfócitos de trabalhadores expostos ocupacionalmente ao cromo III em indústria de tratamento de couro em Teresina-PI. Significantes aumentos na frequência de AC foram observados em trabalhadores de indústrias de tratamento do couro e a indução de AC resulta de processos complexos ainda não entendidos completamente, dentre seus mecanismos cita-se as quebras diretas no DNA, os danos diretos no DNA durante replicação, inibição da síntese de DNA e inibição da topoisomerase II (CID *et al.*, 1991; SBRANA *et al.*, 1991).

O teste de aberrações cromossômicas é um dos mais importantes testes citogenéticos como indicativo de riscos de câncer em populações expostas ocupacionalmente e no ambiente a agentes químicos que induzem genotoxicidade e carcinogenicidade. Estudos prévios sugerem que o aumento da frequência de AC em sangue periférico indica uma predisposição ao câncer (GHOSH *et al.*, 2007). Danos em sangue periférico de trabalhadores expostos ao cromo trivalentes em indústrias de curtume foram avaliados com o teste cometa e os resultados foram correlacionados com a dosagem de cromo em sangue e em urina (MEIBIAN *et al.*, 2008).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados apontam uma relação positiva entre a indução de aberrações cromossômicas em cultura de linfócitos de trabalhadores expostos ocupacionalmente ao cromo III em indústria de tratamento de couro em Teresina-PI. O biomonitoramento da exposição às substâncias químicas genotóxicas é de suma importância para a avaliação de riscos à saúde humana e pode ser usado como uma estratégia para interferência nas condições ocupacionais e na saúde do trabalhador.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CID, M.G.; LORIA, D.; VILENSKY, M.; MIOTTI, J.L. E. (1991) Leather tanning workers: chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes and micronuclei in exfoliated cells in urine, **Mutat. Res.** 259, 197–201
- GHOSH, P. *et al.* Increased chromosome aberration frequencies in the Bowen's patients compared to non-cancerous skin lesions individuals exposed to arsenic. **Mutat Res.** 632 (2007) 104–110.
- MEIBIAN, Z. *et al.* Investigating DNA damage in tannery workers occupationally exposed to trivalent chromium using comet assay. **Mutat Res.** 654 (2008) 45–51.
- RAJA, N. S.; NAIR, B. U. Chromium(III) complexes inhibit transcription factors binding to DNA and associated gene expression. **Toxicol.** 251 (2008) 61–65.
- RÖSSNER, P. B.; CEPPI, P. B.; SMERHOVSKY, M. S.; LANDA, Z. K. J.; SRAM, D. R. J. Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer, **Environ. Hea Pers.** 113; 517–520, 2005.
- SBRANA, I.; CARETTO, S.; BATTAGLIA, A. (1991) Chromosomal aberration analysis of workers in tannery industries, **Mutat. Res.** 260, 331–336.