

Monitoramento da ação genotóxica em trabalhadores de sapatarias através do teste de micronúcleos, Pelotas, Rio Grande do Sul

Monitoring the genotoxic action in shoe workers by micronucleus test, Pelotas, Rio Grande do Sul State

Natália Silveira Corrêa¹
 Josiana Scherer Bassan¹
 Cristiane de Jesus da Cunha¹
 Ricardo Ramires Fernández¹
 Paula Siqueira Bachettini¹
 Gilberto de Lima Garcias¹
 Maria da Graça Martino-Roth¹

Abstract *In this paper it was investigated the micronuclei frequency in exfoliated oral mucosa cells in shoe shop workers in the city of Pelotas, RS. The study counted on 54 shoe workers exposed to glue and solvents and 54 controls. It was evaluated the incidence of cells with micronucleus (CMN), bi-nucleus (CBN), linked nucleus (CLN) and total amount of anomalies (TAA), in 2000 cells per person. A database was created in the SPSS "for Windows" software using the Mann-Whitney U, $p < 0.05$ test. The average of anomalies among shoe workers was 8.69 ± 6.49 CMN; 8.85 ± 4.92 CBN; 5.78 ± 4.78 CNL; 23.31 ± 10.01 TA, in the controlled 4.00 ± 5.05 CMN; 4.63 ± 4.35 CBN; 4.76 ± 5.00 CNL; 13.39 ± 9.43 TA ($p = 0.0001$; $p = 0.0001$; $p = 0.144$ and $p = 0.0001$ respectively). It was also evaluated the age, gender, time of work, family income, smoke, alcohol beverages, the influence of dermatological, ophthalmological, respiratory and central nervous system (CNS) diseases in the number of cell anomalies. These items did not have any influence. It was only observed that among the age group of 15 to 29 years old the number of CNL was bigger than among the age group of 45 to 72. Among those with time of work of 0.1 and 10 years presented a higher CNM than in the other group range.*

Key words *Shoe shop workers, Micronucleus, Genotoxicity*

Resumo *Neste trabalho, investigou-se a frequência de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa bucal de trabalhadores de sapatarias, na cidade de Pelotas (RS). O estudo constou de 54 trabalhadores de sapatarias expostos à cola e solventes e 54 controles. Avaliou-se a incidência de células com micronúcleos (CMN), binucleadas (CBN), núcleos ligados (CNL) e total de anomalias (TA), em 2.000 células por indivíduo. Elaborou-se um banco de dados no programa SPSS "for Windows" pelo teste de Mann-Whitney U, $p < 0,05$. A média de anomalias entre os sapateiros foi 8.69 ± 6.49 CMN; $8,85 \pm 4,92$ CBN; $5,78 \pm 4,78$ CNL; $23,31 \pm 10,01$ TA, e nos controles $4,00 \pm 5,05$ CMN; $4,63 \pm 4,35$ CBN; $4,76 \pm 5,00$ CNL; $13,39 \pm 9,43$ TA ($p = 0,0001$; $p = 0,0001$; $p = 0,144$ e $p = 0,0001$, respectivamente). Avaliou-se a influência da idade, sexo, tempo de trabalho, renda familiar, fumo, bebida alcoólica, doenças dermatológicas, oftalmológicas, respiratórias e sistema nervoso central (SNC) no número de anomalias celulares. Esses não influenciaram; apenas observou-se que, na faixa etária de 15 a 29, foi maior o número de CNL do que em 45 a 72 anos e no tempo de trabalho de 0,1 a 10 anos apresentou mais CMN do que as outras faixas. Palavras-chave Sapateiros, Micronúcleos, Genotoxicidade*

¹Laboratório de Genética, Universidade Católica de Pelotas, Rua Félix da Cunha 412, Centro. 96010-000 Pelotas RS. nataliasilcor@gmail.com

Introdução

Com o aumento da industrialização, os trabalhadores estão frequentemente expostos a agentes químicos, físicos e biológicos, que podem ter um efeito mutagênico e carcinogênico nas populações^{1,2}.

Os solventes industriais são muito numerosos e, em algumas áreas de trabalho, são a principal fonte de risco para os trabalhadores. Sua utilização pode ser muito variável, isso é, um mesmo composto pode ser destinado como solvente, diluente e reativo a produtos intermediários em processos de síntese orgânica³.

Na fabricação de calçados, este elemento está presente como fator de risco em todo o fluxo tecnológico, e a elaboração deste é utilizado em diferentes substâncias químicas que contêm nafta, tolueno, metil-etil-cetona, cola, entre outros, nas diferentes fases do processo da confecção do produto final³. Segundo Burgaz *et al.*⁴, o n-hexano e o tolueno são os solventes encontrados com maior frequência nas colas usadas nos sapatos, mas existem outros solventes, como o heptano, acetona e benzeno, que têm menor concentração.

Desde que se soube que o benzeno pode causar leucemia em humanos e outros efeitos adversos à saúde, foi substituído em grande parte por outros solventes menos tóxicos. Entretanto, em muitas partes do mundo, alguns processos industriais ainda fazem uso controlado do benzeno ou usam-no em uma mistura, por exemplo, em gasolina e como o solvente adesivo em fábricas de colagem e de sapato, sendo que a população geral é exposta ao benzeno das emissões automotrizas⁵.

A exposição ao benzeno pode ser avaliada com o uso de biomarcadores que são úteis em caracterizar a exposição interna, como, por exemplo, o benzeno não metabolizado na respiração, na urina e no sangue ou como metabólitos na urina. Mas os marcadores com potenciais carcinogênicos, como, por exemplo, os citogenéticos, são também muito importantes⁵.

Os trabalhadores em fábricas de sapatos e botas são expostos a uma mistura de solventes orgânicos, particularmente o tolueno, mas também a outros compostos, principalmente originários da cola usada. O tolueno aparentemente não é um carcinógeno, nem genotóxico *in vitro*, e não apresenta respostas positivas em ensaios *in vivo*, os quais sugerem que, da exposição ao tolueno, não resultam danos genéticos nas células somáticas. Por outro lado, o benzeno pode ser responsável por algum tipo de câncer como,

por exemplo, a leucemia, que é encontrada em trabalhadores da indústria de botas e de sapato. Investigações recentes indicam que há uma frequência aumentada de aberrações cromossômicas estruturais em trabalhadores de sapatarias expostos ao benzeno e ao tolueno⁶.

Com o aumento de estudos que documentam a existência de xenobióticos perigosos por todo o mundo⁷⁻⁹, e com o aumento da introdução, no ambiente, de agentes químicos fabricados pelo homem, a população e as agências governamentais estão se tornando cada vez mais preocupadas com o impacto de contaminantes ambientais para as populações humanas. Para diminuir essas preocupações, as populações expostas estão sendo monitoradas a fim de determinar se uma exposição pode ou não causar problemas na saúde¹⁰.

Uma maneira de se estudar os efeitos em uma população exposta é conduzir estudos de monitoramento, utilizando parâmetros biológicos pertinentes, com manifestação a curto prazo, tais como ensaios de micronúcleos, que podem identificar danos no DNA e/ou nos cromossomos resultantes da exposição ocupacional. A informação obtida pode ser usada como um aviso precoce do risco potencial para desenvolver a longo prazo problemas de saúde¹¹.

Micronúcleos consistem em pequenas quantidades de DNA que surgem no citoplasma quando fragmentos de cromossomos ou cromátides ou cromossomos inteiros não são incorporados ao núcleo principal da célula filha, por ocasião da divisão celular. Fragmentos acêntricos não migram e permanecem atrasados na anáfase, enquanto que os elementos cromossômicos com centrômero são orientados em direção aos pólos do fuso. Os fragmentos de DNA deixados para trás são incorporados dentro de núcleos secundários, que por serem muito menores que o núcleo principal da célula são chamados de micronúcleos. As células esfoliadas não se dividem mais, mas refletem anormalidades citogenéticas que ocorreram na população de células da camada basal. A determinação de micronúcleo dá-se de método rápido e não invasivo, nos casos de mucosa bucal, escarro, urina, sêmen, colo uterino. A presença de micronúcleos nas células esfoliadas serve como dosímetro interno, indicando um potencial ao desenvolvimento de câncer. A aplicação da pesquisa de micronúcleos em estudos populacionais com diferentes exposições genotóxicas pode aumentar o conhecimento do potencial carcinogênico de agentes ambientais em humanos e pode permitir elucidar mecanismos carcinogênicos¹².

Esse trabalho teve por objetivo investigar a frequência de células com micronúcleos (CMN), núcleos ligados (CNL), binucleadas (CBN) e total de anomalias (TA) em células esfoliadas da mucosa bucal de trabalhadores de sapatarias, visando detectar se há efeito genotóxico das substâncias a que eles estão expostos. Além disso, avaliar a influência de fatores não ocupacionais, como idade, tempo de trabalho, uso de fumo e hábito alcoólico, doenças dermatológicas, oftalmológicas e respiratórias na frequência de células com micronúcleos e demais alterações. E intervir, se for o caso, a fim de reforçar a necessidade do uso de equipamento de proteção, para diminuir o nível de exposição a que os trabalhadores são submetidos no ambiente de trabalho.

Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genética da Escola de Saúde da Universidade Católica de Pelotas, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição. A amostra analisada constou de 108 trabalhadores; destes, 54 eram trabalhadores de sapatarias, os quais estão diariamente expostos a substâncias químicas como cola e solventes, e 54 trabalhadores denominados grupo controle, os quais atuam em diferentes áreas e sem exposição conhecida a agentes genotóxicos de qualquer origem, apresentando mesmo sexo, mesma faixa etária e mesmo nível socioeconômico do grupo exposto.

Ambos os grupos de trabalhadores responderam a um questionário, conforme protocolo publicado pela Comissão Internacional para Proteção Ambiental a Mutágenos e Carcinógenos¹³, para a obtenção de informações quanto à exposição ocupacional, não ocupacional, hábitos e dieta. E assinaram um termo de consentimento pós-informado.

O material necessário para análise foi obtido através de coletas realizadas com o auxílio de um abaixador de língua de madeira, previamente umedecido em água mineral sem gás. Foi feita a raspagem na cavidade oral, na região malar, para obtenção de células esfoliadas da mucosa bucal. A primeira raspagem foi desprezada. O abaixador de madeira, com o raspado, foi colocado em tubo de centrifuga com tampão fosfato, pH 6,8. O material foi, então, transportado até o laboratório, onde foi processado.

Foram retirados os abaixadores de madeira dos tubos e os mesmos foram centrifugados, durante dez minutos, a 1.000 rpm, retirando-se

o sobrenadante e deixando-se 0,5 ml de sedimento e solução. Após, foi colocado 12 ml de fixador (metanol; ácido acético 3:1) por trinta minutos, no freezer, centrifugando-o novamente. Ao retirar o sobrenadante, foi deixado 0,5 ml, adicionando-se mais uma vez 8 ml de fixador. Logo, a solução foi centrifugada, retirando-se, após, o sobrenadante, deixando-se o mínimo de solução (0,3 ml). Com o auxílio de uma pipeta Pasteur, a solução foi ressuspensa, pingando-se na lâmina pré-aquecida a 37°C, três gotas, levando-se até a chama de uma lamparina, flambando e deixando secar por toda a noite. Na manhã seguinte, realizou-se a hidrólise com HCl (1N) a 63°C e corou-se com Shiff-fast-green por dez minutos.

A análise das células foi realizada em microscópio óptico, binocular, com objetiva de 100X. A frequência de micronúcleos (Figura 1) e outras anomalias nucleares (células com núcleos ligados e células binucleadas) foram registradas em ficha específica. Foram analisadas 2.000 células por indivíduo, considerando-se somente as células não fragmentadas e não sobrepostas. Os critérios utilizados para a identificação de um micronúcleo foram os estabelecidos por Picker e Fox¹⁴: (a) o micronúcleo deverá ter um contorno regular, redondo ou oval e estar dentro do citoplasma de uma célula; (b) o micronúcleo deve ser Feulgen-positivo e de intensidade igual ou menor, a mesma textura e refração do núcleo

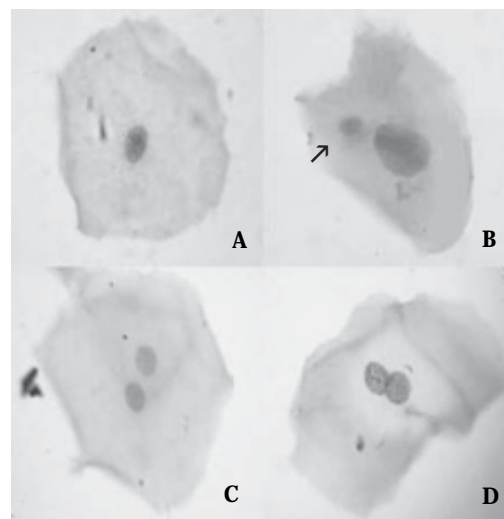


Figura 1. Células da mucosa bucal: A) Célula normal; B) Célula com micronúcleo (CMN); C) Célula binucleada (CBN) e D) Célula com núcleos ligados (CNL).

Fonte: Laboratório de Genética.

principal; (c) o micronúcleo deve ser menor que o núcleo principal, isto é, seu diâmetro deve ser 1/3 do diâmetro do núcleo principal; (d) estar no mesmo plano de foco; e (e) o micronúcleo deverá estar claramente separado do núcleo principal. Serão registrados até três micronúcleos por célula, sendo que micronúcleos questionáveis não serão registrados.

Os dados foram codificados, tabelados e armazenados em um banco de dados do programa SPSS for Windows, versão 10.0, e as análises estatísticas foram realizadas através do teste de Mann-Whitney U, com significância $p < 0,05$.

Resultados

As principais características da população estudada estão resumidas na Tabela 1. A média da idade dos dois grupos não foi significativamente diferente, o tempo de trabalho variou de 0,1 a 50 anos, a renda familiar, de 1 a 15 salários. As demais doenças como as oftalmológicas, respiratórias e sistema nervoso central (SNC) encontravam-se na mesma proporção nos expostos e nos controles.

Na Tabela 2, constam os dados das alterações nucleares observadas. A média destas alterações constou de 8,69+6,49 de TCMN, 8,85+4,92

Tabela 1. Dados sociodemográficos dos trabalhadores de sapataria e controles da cidade de Pelotas (RS).

Características	Expostos (n=54)	Controles (n=54)
Sexo		
Feminino	6 (11,1%)	6 (11,1%)
Masculino	48 (88,9%)	48 (88,9%)
Idade (anos)		
Mínima	15	17
Máxima	72	70
\bar{X}/DP	44,33 ± 14,05	43,39 ± 14,62
Tempo de trabalho (anos)		
Mínimo	0,1	0,4
Máximo	45	50
\bar{X}/DP	15,70 ± 13,54	10,70 ± 11,34
Renda familiar (salários)		
Mínimo	1	1
Máximo	7	15
\bar{X}/DP	2,63 ± 1,39	3,60 ± 2,72
Hábito de fumar		
Sim	17 (31,5%)	13 (24,1%)
Não	37 (68,5%)	41 (75,9%)
Hábito de beber		
Sim	38 (70,4%)	36 (66,7%)
Não	16 (29,6%)	18 (33,3%)
Doenças dermatológicas		
Sim	25 (46,3%)	20 (37,0%)
Não	25 (46,3%)	31 (57,4%)
Doenças oftalmológicas		
Sim	12 (22,2%)	15 (27,8%)
Não	30 (55,6%)	35 (64,8%)
Doenças respiratórias		
Sim	3 (5,6%)	1 (1,9%)
Não	25 (46,3%)	29 (53,7%)
Doença do SNC		
Sim	15 (27,8%)	13 (24,1%)
Não	7 (13,0%)	12 (22,2%)

\bar{X} : média; DP: desvio padrão.

As diferenças observadas quanto ao número de indivíduos em cada variável devem-se à ausência de informação por parte dos indivíduos que fazem parte da amostra.

de TCBN, 5,78+4,78 de TCNL, 23,31+10,01 de TA nos expostos, já nos controles o TCMN foi de 4,00+5,05, o TCBN foi de 4,63+4,35, o TCNL foi de 4,76+5,00 e o TA foi de 13,39+9,43; todas elas apresentaram p significativo de 0,0001, exceto o TCNL, que foi p=0,144.

Procurou-se investigar a influência dos fatores não ocupacionais no número de células com

alterações nucleares (TCMN, TCBN, TCNL e TA), tanto nos sapateiros como nos controles (Tabelas 3 e 4).

Nos trabalhadores expostos, não houve diferenças significativas entre o número de células com micronúcleos, binucleadas e com núcleos ligados; entretanto, verifica-se um pequeno aumento de células com micronúcleos concomitante ao aumento da faixa etária.

Tabela 2. Média de alterações nucleares encontradas em trabalhadores de sapataria e controles da cidade de Pelotas (RS).

	TCMN X̄/DP	TCBN X̄/DP	TCNL X̄/DP	TA X̄/DP
Expostos (n=54)	8,69 ± 6,49	8,85 ± 4,92	5,78 ± 4,78	23,31 ± 10,01
Controles (n=54)	4,00 ± 5,05	4,63 ± 4,35	4,76 ± 5,00	13,39 ± 9,43
Valor de p	p=0,0001	p=0,0001	p=0,144	p=0,0001

TCMN: total de células com micronúcleos, TCBN: total de células binucleadas, TCNL: total de células com núcleos ligados e TA: total de anomalias, X̄: média; DP: desvio padrão.

Tabela 3. Média das anomalias nucleares relacionadas ao perfil sociodemográfico dos trabalhadores de sapataria da cidade de Pelotas (RS).

Fatores	TCMN X̄/DP	TCBN X̄/DP	TCNL X̄/DP	TA X̄/DP
Idade				
15 - 29 anos (n= 7)	7,43 ± 3,10	9,43 ± 4,50	9,29 ± 2,93	26,14 ± 6,36
30 - 44 anos (n= 20)	8,15 ± 5,61	9,30 ± 3,96	6,05 ± 5,42	23,50 ± 10,94
45 - 72 anos (n= 27)	9,41 ± 7,71	8,37 ± 5,72	4,67 ± 4,30	22,44 ± 10,22
			p=0,072 (f 1 e f 2)	
			p=0,008 (f 1 e f 3)	
Renda familiar				
0 -1 salários (n= 11)	10,64 ± 9,95	8,27 ± 3,69	4,91 ± 4,53	23,11 ± 11,86
2 -4 salários (n= 36)	8,58 ± 5,47	9,17 ± 5,35	6,33 ± 5,10	24,08 ± 9,71
5 -15 salários (n= 4)	6,50 ± 2,52	5,00 ± 1,83	2,50 ± 1,29	14,00 ± 2,82
		p=0,047 (f 2 e f 3)		p=0,028 (f 2 e f 3)
				p=0,056 (f 1 e f 3)
Tempo de trabalho				
0,1 - 10 anos (n= 25)	9,72 ± 7,82	8,24 ± 4,36	7,60 ± 5,03	25,56 ± 9,84
11 - 21 anos (n=11)	5,18 ± 2,71	8,27 ± 3,90	6,18 ± 3,87	19,63 ± 8,67
22 - 72 anos (n=18)	9,39 ± 5,54	10,06 ± 6,11	3,00 ± 3,68	22,44 ± 10,70
			p=0,019(f 2 e f 3)	
			p=0,002 (f 1 e f 3)	
Sexo				
Feminino (n= 6)	11,67 ± 13,34	8,67 ± 3,14	8,00 ± 6,03	28,33 ± 12,73
Masculino (n= 48)	8,31 ± 5,23	8,88 ± 5,12	5,50 ± 4,60	22,68 ± 9,60

continua

Tabela 3. continuação

Fatores	TCMN X̄/DP	TCBN X̄/DP	TCNL X̄/DP	TA X̄/DP
Hábito de beber				
Sim (n=38)	8,63 ± 6,86	8,64 ± 4,94	6,26 ± 4,89	23,63 ± 10,89
Não (n=37)	8,81 ± 5,74	9,13 ± 5,02	4,63 ± 4,44	22,56 ± 7,78
Hábito de fumar				
Sim (n=17)	9,88 ± 9,45	8,18 ± 3,23	5,35 ± 6,03	23,41 ± 11,93
Não (n=37)	8,14 ± 4,63	9,16 ± 5,54	5,97 ± 4,17	23,27 ± 9,18
Doenças oftalmológicas				
Sim (n=12)	9,83 ± 9,78	7,58 ± 2,75	4,83 ± 5,97	22,25 ± 12,89
Não (n=30)	8,47 ± 5,85	8,90 ± 5,54	4,73 ± 4,11	22,10 ± 9,19
Doenças dermatológicas				
Sim (n=25)	8,88 ± 4,85	8,20 ± 4,27	7,00 ± 5,39	24,08 ± 8,52
Não (n=25)	8,80 ± 8,24	9,52 ± 5,60	4,16 ± 3,88	22,48 ± 11,66
Doenças respiratórias				
Sim (n=3)	5,67 ± 1,53	7,33 ± 2,08	1,33 ± 0,58	14,33 ± 3,78
Não (n=25)	10,80 ± 7,97	8,52 ± 5,99	3,68 ± 4,72	23,00 ± 11,36
Doenças do SNC				
Sim (n=15)	7,73 ± 3,77	9,87 ± 4,12	9,20 ± 3,08	26,80 ± 7,07
Não (n=7)	6,43 ± 5,88	8,29 ± 4,15	7,86 ± 4,63	22,57 ± 10,65

TCMN: total de células com micronúcleos, TCBN: total de células binucleadas, TCNL: total de células com núcleos ligados, TA: total de anomalias, SNC: sistema nervoso central e f: faixa, X: média, DP: desvio padrão.

* As diferenças observadas quanto ao número de indivíduos em cada variável devem-se à ausência de informação por parte dos indivíduos que fazem parte da amostra.

Fonte: Laboratório de Genética UCPel.

Tabela 4. Média das anomalias nucleares relacionadas ao perfil sociodemográfico dos controles de trabalhadores de sapataria da cidade de Pelotas (RS).

Fatores	TCMN X̄/DP	TCBN X̄/DP	TCNL X̄/DP	TA X̄/DP
Idade				
15 - 29 anos (n= 7)	3,00 ± 2,62	5,13 ± 4,12	6,38 ± 5,40	14,50 ± 8,22
30 - 44 anos (n=20)	4,04 ± 4,97	4,83 ± 5,10	5,33 ± 5,00	14,20 ± 10,39
45 - 72 anos (n=27)	4,32 ± 5,87	4,23 ± 3,64	3,55 ± 4,80	12,09 ± 8,96
Renda familiar				
0 - 1 salários (n= 4)	6,50 ± 11,00	5,75 ± 2,22	2,50 ± 2,52	14,75 ± 11,11
2 - 4 salários (n= 40)	4,43 ± 4,74	4,70 ± 4,69	4,90 ± 5,28	14,02 ± 9,91
5 - 15 salários (n= 8)	1,38 ± 1,06	4,25 ± 4,06	5,00 ± 4,38	10,62 ± 6,67
Tempo de trabalho				
0,1 - 10 anos (n= 35)	3,77 ± 4,61	4,57 ± 4,43	4,34 ± 4,14	12,68 ± 8,88
11 - 21 anos (n= 12)	4,58 ± 6,87	4,00 ± 3,59	3,08 ± 5,09	11,66 ± 9,49
22 - 72 anos (n= 7)	4,14 ± 4,18	6,00 ± 5,42	9,71 ± 6,37	19,85 ± 10,69
			p=0,013 (f 2 e f 3)	
			p=0,021 (f 1 e f 3)	p=0,053 (f 1 e f 3)

continua

Tabela 4. continuação

Fatores	TCMN X̄/DP	TCBN X̄/DP	TCNL X̄/DP	TA X̄/DP
Sexo				
Feminino (n= 6)	3,33 ± 2,58	5,83 ± 5,49	6,33 ± 6,71	15,50 ± 11,43
Masculino (n= 48)	4,08 ± 5,29	4,48 ± 4,23	4,56 ± 4,80	13,12 ± 9,25
Hábito de beber				
Sim (n= 36)	4,56 ± 5,58	3,89 ± 4,18	3,83 ± 4,41	12,27 ± 9,45
Sem (n= 18)	2,89 ± 3,66	6,11 ± 4,42	6,61 ± 5,69	15,61 ± 9,22
		p=0,041		
Hábito de fumar				
Sim (n= 13)	1,69 ± 1,38	4,31 ± 2,43	4,38 ± 4,33	10,38 ± 5,40
Não (n= 41)	4,73 ± 5,56	4,73 ± 4,82	4,88 ± 5,24	14,34 ± 10,25
Doenças oftalmológicas				
Sim (n=15)	3,27 ± 3,94	5,33 ± 4,39	6,53 ± 4,98	15,13 ± 8,27
Não (n=35)	4,46 ± 5,59	4,46 ± 4,55	3,37 ± 4,14	12,28 ± 9,88
		p=0,018		
Doenças dermatológicas				
Sim (n=20)	5,70 ± 5,96	4,90 ± 5,31	5,85 ± 5,25	16,45 ± 10,28
Não (n=31)	3,19 ± 4,36	4,45 ± 3,79	3,97 ± 4,92	11,61 ± 8,83
				p=0,048
Doenças respiratórias				
Sim (n=1)	3,00 ± 0	1,00 ± 0	1,00 ± 0	5,00 ± 0
Não (n=29)	5,45 ± 6,18	3,90 ± 4,53	1,83 ± 2,48	11,17 ± 9,96
Doenças do SNC				
Sim (n=13)	1,92 ± 2,40	5,31 ± 3,22	7,85 ± 4,36	15,07 ± 6,40
Não (n=12)	2,75 ± 2,67	5,67 ± 4,79	9,17 ± 5,52	17,58 ± 9,55

TCMN: total de células com micronúcleos, TCBN: total de células binucleadas, TCNL: total de células com núcleos ligados, TA: total de anomalias, SNC: sistema nervoso central e f: faixa, X̄: média; DP: desvio padrão.

* As diferenças observadas quanto ao número de indivíduos em cada variável devem-se à ausência de informação por parte dos indivíduos que fazem parte da amostra.

Fonte: Laboratório de Genética UCPel.

O tempo de trabalho foi classificado em três faixas (1: de 0,1 a 10 anos; 2: de 11 a 21 anos e 3: de 22 a 72 anos) e observou-se que o número de células com micronúcleos foi maior nas faixas extremas 1 e 3, que diferiram significativamente da faixa 2. A renda familiar também foi dividida em três faixas (1: de 0 a 1 salário; 2: de 2 a 4 salários; 3: de 5 a 15 salários) e embora observe-se uma diminuição do número de CMN conforme aumenta o número de salários, esta diferença não foi significativa.

O sexo, o hábito de beber, o hábito de fumar e as doenças respiratórias, oftalmológicas, do sistema nervoso central e dermatológicas não influenciaram no número de células com alteração nucleares. O mesmo ocorreu com os controles, em que os fatores não ocupacionais não interferiram no número de alterações nucleares.

Discussão

A exposição a agentes genotóxicos pode ser natural e ambiental, por contaminação não específica ocupacional ou por acidentes industriais¹⁵.

Os sapateiros são trabalhadores informais que estão expostos a substâncias presentes na cola, na tinta e no solvente usado no concerto dos sapatos, que contém hexano, acetona e benzeno. Os vapores destes produtos ficam no ambiente e chegam ao trabalhador por distintas vias de entrada, o que ocasiona irritação nas vias respiratórias superiores e afetam o nariz, a garganta e os pulmões. Em contato com a pele, podem causar ressecamento e irritação. Estas substâncias são potencialmente tóxicas para o fígado, principalmente quando combinadas, podem também ser prejudiciais para os rins, coração e

sistema nervoso central, podendo causar sonolência, dor de cabeça, tontura, dispepsia e náuseas³. Burgaz *et al.*⁴ demonstram em seu trabalho que o hexano é a principal substância a que estes trabalhadores estão expostos.

Diaz *et al.*¹⁶ observaram um aumento significativo na frequência de micronúcleos em células da mucosa oral de cubanos, expostos principalmente ao xileno e ao tolueno. Surralles *et al.*¹⁷ sugeriram que o nível de exposição ao benzeno de ~1.p.m.m não induz aumento significativo da frequência de micronúcleos em células de mucosa bucal de linfócitos, mas o tolueno tem sido considerado genotóxico tanto *in vivo* como *in vitro*⁴.

Os resultados deste trabalho, que mostram uma frequência significativamente aumentada de CMN e outras alterações nos trabalhadores de sapataria em relação ao controle, concordam com os resultados de Burgaz *et al.*⁴, que também avaliaram a frequência de micronúcleos em células esfoliadas da mucosa bucal de sapateiros na Turquia.

Poucos são os trabalhos que relatam estudos com este tipo de trabalhador. Um outro estudo realizado por Padrón *et al.*⁵ avaliou a morbidade de sapateiros através de exame clínico e laboratorial. Nesse trabalho, foram investigados 58 mulheres e 13 homens, trabalhadores de sapatarias que foram comparados com um grupo controle de 133 pessoas. Tendo em vista que os resultados indicam uma maior morbidade entre os expostos, os autores recomendam estabelecer uma vigilância de saúde nestes trabalhadores.

Em contrapartida, Pitarque *et al.*⁶ realizaram avaliação genotóxica em 34 mulheres que trabalhavam em fábricas de sapato, através de ensaio cometa, e não acharam aumento significativo de genotoxicidade nas mulheres expostas avaliadas.

O fumo tem sido uma das principais causas de câncer de bexiga e muitos trabalhos mostram um aumento de micronúcleos em fumantes. A bebida alcoólica também tem sido descrita como

uma substância mutagênica²; entretanto, neste trabalho, ficou evidenciado que nem o fumo nem o álcool causou aumento de células com micronúcleos, nem entre os expostos, nem entre os controles.

Alguns estudos mostram uma associação positiva entre a idade e a frequência de micronúcleos, devido ao significativo aumento nas alterações cromossômicas, tanto em homens como mulheres, com o aumento da idade¹⁸. Por essa razão, avaliou-se a influência de três faixas etárias no número de CMN. Embora as diferenças não tenham sido significativas, verifica-se um pequeno aumento de CMN relacionado com o aumento de idade, o que confirma os estudos anteriores.

Os demais fatores não ocupacionais analisados não influenciaram no número de CMN; portanto, apenas a exposição a substâncias tóxicas utilizadas no trabalho dos sapateiros causa um aumento nas alterações nucleares.

Procurou-se confirmar, através do questionário de saúde pessoal, se as alterações dermatológicas (dermatite, problemas cutâneos, ardência, manchas ou alteração da pigmentação, coceira, edema, inchaço e outros), oftalmológicas, respiratórias (asma, bronquite, falta de ar, tosse crônica, rinite, sinusite e coceira no nariz) e do sistema nervoso central (tonturas, cansaço mental, dor de cabeça e outros), relatadas pelos trabalhadores de sapatarias, realmente apresentavam uma alta frequência entre eles. E constatou-se que, na realidade, esses problemas encontram-se na mesma proporção tanto nos expostos quanto nos controles e não apresentaram relação com o número de células com alterações nucleares.

Pode-se concluir, portanto, que os trabalhadores de sapataria expostos a uma mistura de solventes orgânicos, avaliados neste trabalho, apresentam um aumento significativo de TCMN, TCBN e TA, indicando uma ação genotóxica destas substâncias e que os fatores não ocupacionais não têm relação com este aumento.

Colaboradores

NS Corrêa, JS Bassan, CJ da Cunha, RR Fernández, PS Bachettini, GL Garcias e MG Martino-Roth participaram igualmente de todas as etapas da elaboração do artigo.

Referências

1. Santos-Mello R, Silva JMGC. Cytogenetics study on coke oven workers with abnormal blood counts. *Mutat Res* 1992; 280:261-269.
2. Maluf SW, Erdtmann B. Follow-up study of the genetic damage in lymphocytes of pharmacists and nurses handling antineoplastic drugs evaluated by cytokinesis-block micronuclei analysis and single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res* 2000; 471:21-27.
3. Padrón HD, Fernández MEL, Novas MP, Padua GR, Almeida PG. Evaluación de la exposición ocupacional a solventes en trabajadores de una fábrica de calzados. *Revista Cubana Hig Epidemiol* 1999; 37(3):114-121.
4. Burgaz S, Erdem O, Çakmak G, Erdem N, Karakaya A, Karakaya AE. Cytogenetic analysis of buccal cells from shoe-worker and pathology and anatomy laboratory workers exposed to n-hexano, toluene, methyl ethyl ketone and formaldehyde. *Biomarkers* 2002; 2:151-161.
5. Chanvaivit S, Navasumrit P, Hunsonti P, Autrup H, Ruchirawat M. Exposure assessment of benzene in Thai workers, DNA-repair capacity and influence of genetic polymorphisms. *Mutat Res* 2007; 626:79-87.
6. Pitarque M, Vaglenov A, Nosko M, Hirvonem A, Norppa H, Creus A, Marcos R. Evaluation of DNA damage by the Comet assay in shoe workers exposed to toluene and other organic solvents. *Mutat Res* 1999; 441:115-127.
7. Lichtveld MY, Johnson BL. Public health implications of hazardous waste sites in the United States. In: Andrews JS Jr, Frumkin H, Johnson BL, Mehlman MA, Xintaras C, Bucsela JA, editors. *Hazardous Waste and Public Health: International Congress on the Health Effects of Hazardous Waste*. Princeton, NJ: Princeton Scientific Publishing; 1994. p. 14-32.
8. Dean CE, Pena C, Varady R, Suk WA. Environmental health and hazardous waste issues related to the US-Mexico border. *Environ Health Perspect* 1996; 104:590-594.
9. DeRosa CT, Jonson BL, Fay M, Hansen H, Mumtaz MM. Public health implications of hazardous waste sites: findings, assessment and research. *Food Chem Toxicol* 1996; 34:1131-1138.
10. Ribeiro LR, Au WW. *Estratégias para a condução de estudos em monitoramento genotóxicos de populações humanas*. Canoas: UBRA; 2003.
11. Au WW. Cytogenetic assays in monitoring human exposure and prediction of risk. *Environ Mutagen Carcinogen Teratogen* 1991; 23:236-245.
12. Dietz J, Diehl AS, Prolla JC, Furtado CD, Furtado AD. Pesquisa de micronúcleos na mucosa esofágica e sua relação com fatores de risco ao câncer do esôfago. *Rev Assoc Med Bras* 1992; 46(3):207-211.
13. Carrano AV, Natarajan A. Considerations for population monitoring using cytogenetics techniques. ICPEMC publication 14. *Mutat Res* 1988; 204: 379-406.
14. Picker JD, Fox DP. Do curried foods produce micronuclei in buccal epithelial cells? *Mutat Res* 1986; 171:185-188.
15. Anderson D. Factors contributing to biomarker responses in exposed workers. *Mutat Res* 1999; 428:197-202.

16. Diaz S, Fonseca G, Fernandez I. Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas* 1990; 113:77-80.
17. Surralles J, Natarjan AT. Human lymphocytes micronucleus assay in Europe A international survey. *Mutat Res* 1997; 392:165-174.
18. Calvert GM, Talaska G, Mueller CA. Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutat Res* 1998; 417:115-128.

Artigo apresentado em 21/12/2007
Aprovado em 29/10/2008