

# Estudo citogenético da suscetibilidade à Bleomicina em indivíduos profissionalmente expostos ao chumbo

Citogenetic study of susceptibility to Bleomycin in workers professionally exposed to lead

Agnes Barbério

Departamento de Biologia da Universidade de Taubaté

Edmundo José de Lucca

Instituto de Biotecnologia - Departamento de Genética - UNESP/Botucatu

## RESUMO

O chumbo é um antigo poluente do meio ambiente e os efeitos desse elemento nocivo ao material genético ainda é incerto. O objetivo deste trabalho foi verificar se indivíduos contaminados pelo chumbo têm ou não maior suscetibilidade a bleomicina e se eles apresentam frequência aumentada de quebras cromossômicas espontâneas. Foram analisados citogeneticamente, através da cultura de linfócitos de sangue periférico, 13 indivíduos expostos profissionalmente, pareados por sexo e idade com 13 indivíduos controles. Somente um indivíduo exposto foi sensível a bleomicina (1,32) e nenhum indivíduo do grupo controle apresentou sensibilidade à droga. Observou-se diferença significativa para o número médio de quebras e *gaps* por célula entre os dois grupos analisados, tanto para as culturas sem como com bleomicina. O número de *gaps* por célula, sem bleomicina, não apresentou resultado significativo quando se compararam os indivíduos dos dois grupos. Não se observou diferença significativa para as frequências de quebras nos diferentes cromossomos ou grupos cromossômicos. A região cromossômica mais atingida por quebras foi a mediana. O efeito clastogênico observado confirma resultados de outros autores. Vários são os fatores que podem interagir com o chumbo e diversos mecanismos de atuação podem ser sugeridos, tais como, modificação da função enzimática normal envolvida na replicação e reparo do DNA, produção de radicais hidroxil e a variabilidade genética em relação à suscetibilidade aos efeitos do chumbo entre os indivíduos.

## PALAVRAS-CHAVE

Chumbo. Aberrações cromossômicas. Toxicidade. Contaminação

## INTRODUÇÃO

De todos os agentes tóxicos de interesse em Saúde Ocupacional, o chumbo ocupa posição de destaque devido à elevada incidência de casos de intoxicação profissional.

A toxicidade do chumbo deve-se, principalmente, a sua interferência no funcionamento das membranas celulares e enzimas, formando complexos estáveis com ligantes contendo enxofre, fósforo, nitrogênio ou oxigênio, que funcionam como doadores de elétrons (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 1999).

A maior parte do chumbo entra no organismo humano pelas vias respiratórias e gastrointestinal. Após a absorção, o chumbo pode ser encontrado no sangue, tecidos moles e mineralizados (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 1999). A absorção do chumbo depende de sua concentração, tempo de exposição, propriedades físico-químicas e, ainda, fatores relacionados com o indivíduo (idade, estado fisiológico, etc.) (GOYER, 1993).

Existem diversos fatores nutricionais capazes de interferir nos efeitos tóxicos do chumbo, como a dieta deficiente em cálcio, fósforo e ferro, e rica em vitamina D, que pode aumentar a absorção de chumbo, aumentar a gravidade da anemia causada pelo chumbo, e a deposição deste metal nos ossos (GOYER, 1993; GOYER; MAHAFFEY, 1972; MAGOS, 1991; SIX; GOYER, 1970). Sabe-se que existe ação sinérgica e antagônica entre metais (CHEH; NEILANDS, 1973; FERM, 1969).

A concentração no sangue é de fundamental importância na avaliação desta exposição, sendo que os valores de chumbo sanguíneo são indicativos para o diagnóstico de quadros de intoxicações agudas, como índice para avaliar as condições de risco em indivíduos expostos ocupacionalmente (LARINI; CARVALHO; SALGADO, 1982). Com relação ao nível sanguíneo

de chumbo, podemos classificá-los em: nível normal, até 30 µg/ 100 mL; nível de limite biológico, 60 µg/ 100mL e nível perigoso, superior a 100 µg/ 100 mL (BUSCHINELLI, 1984). Não há um limite preciso para a toxicidade do chumbo na infância, durante o desenvolvimento de uma criança, o sistema nervoso pode ser afetado adversamente por valores de Pb-S menores que 10 µg/L (BAUCHINGER et al, 1977).

Araki et al. (2000) fizeram uma revisão relacionada ao efeito neurofisiológico subclínico do chumbo em trabalhadores ocupacionalmente expostos e sugeriram que tais efeitos ocorrem a uma concentração de Pb-S na faixa de 30-50 µg/dl. A nefrotoxicidade devido à exposição ocupacional crônica ao chumbo constitui um risco a saúde (NOLAN; SHAIKH, 1992).

Os sintomas característicos da intoxicação do chumbo nos sistemas e órgãos são os seguintes: anemia microcítica, encefalopatia, neuropatia periférica, danos tubulares em intoxicação aguda, fibrose glomerular intersticial e atrofia tubular em intoxicação crônica, cólica, constipação, diarreia. Vários efeitos nos ossos, pulmões, mecanismo de defesa do corpo, secreção hormonal, etc. O conhecimento da cinética do chumbo é de extrema importância para maior compreensão da toxicidade do metal, uma vez que os riscos de efeitos adversos à saúde estão relacionados com o conteúdo corpóreo total do chumbo (MOREIRA; MOREIRA, 2004).

Alguns estudos mostram aumento no número de aberrações cromossômicas nas culturas de indivíduos expostos (AI-HAKKAK et al., 1986; BAUCHINGER et al., 1977; DEKNUDT; LEONARD; IVANOV, 1973; DOUGLAS et al., 1980 ; FORNI et al., 1980; FORNI; CAMBIAGHI; SECCHI, 1980; GRANDJEAN, WULF, NIEBURHR, 1983, HOGSTED et al., 1981, silva, 1996; SIROVER; LOEB, 1976; TACHI; NISHIMAE; SAITO, 1985; UZYCH, 1985; ZELIKOFF et al., 1988) e outros revelam resultados negativos (RIORDAN; EVANS, 1974; BAUCHINGER et al., 1977; DALPRA et al., 1983).

De acordo com o relatório IARC de 1980, o chumbo parece ser um fraco indutor de aberrações cromossômicas e seus compostos são carcinogênicos em roedores.

Tem-se induzido quimicamente lesões no DNA através da Bleomicina (BLM) com o objetivo de se estudar a capacidade de reparo do DNA e de se identificar sítios frágeis em cromossomos e correlacionar estes sítios com neoplasias (YUNIS, 1984).

A BLM, um antibiótico glicopeptídico citotóxico é

obtida a partir de culturas de *Streptomyces verticillus*, possui atividade antitumoral, fazendo parte do arsenal terapêutico usado na Oncologia desde 1970 (SOUZA, 1989).

A BLM atua ao nível de enzimas que agem no DNA, ocasionando alteração da atividade do DNA dependente da DNA-polimerase, pois esta é estimulada durante o período inicial da reação e a seguir é inibida. A DNA ligase também sofre inibição (ONO et al., 1976).

Cherry e Hsu (1983) desenvolveram um protocolo utilizando a BLM para demonstrar que em seres humanos a resposta a agentes mutagênicos não é uniforme. A BLM demonstra alguma especificidade em relação ao ciclo celular: a célula se mostra mais sensível na fase mitótica (M) e no período pós-replicação do DNA (G2) e menos sensível no período pós-mitótico (G1). Considerando-se o efeito clastogênico da BLM e sua decorrente genotoxicidade, alguns experimentos procuram correlacionar esta atividade com a incapacidade de reparo do DNA e a suscetibilidade à oncogênese. De tal forma que quanto maior o número de quebras, mais ineficiente é o mecanismo de reparo (HSU et al., 1989; SCHANTZ; SPITZ; HSU, 1990).

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se seringa heparinizada para punção venosa. Foram coletados 5 mL de sangue periférico de cada indivíduo. A seringa foi mantida sob refrigeração até a preparação da cultura.

Foram analisadas metáfases mitóticas obtidas a partir da cultura de linfócitos de sangue periférico de 13 indivíduos brancos, do sexo masculino, com idade média de  $35,38 \pm 10,27$ . O material foi obtido de trabalhadores da Indústria de Baterias AJAX, em Bauru (SP) e trabalhadores de Oficinas Mecânicas, Funilaria e Pintura de carros de Botucatu (SP). O tempo de exposição profissional ao chumbo variou de 5 meses a 20 anos. Nenhum indivíduo foi previamente submetido à irradiação, tratamento médico, exposição a inseticidas e vacinas, nos 6 meses que antecederam a coleta para análise cromossômica. Esses 13 trabalhadores não apresentavam vício à bebida e também nenhum membro familiar com anomalia congênita.

Como grupo controle, foram analisadas as células de 13 indivíduos brancos, do sexo masculino, pareados por idade, sem contato ocupacional com o chumbo.

As dosagens de chumbo no sangue foram realizadas segundo o método de Yeager (1971). As dosa-

gens de dois trabalhadores foram realizadas pelo Centro de Assistência Toxicológica do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, Botucatu (SP), e os demais pela Toxicon de São Paulo e pelo próprio Instituto Municipal da Saúde do Trabalhador, em Bauru (SP) onde foram realizadas as coletas. Para a obtenção de metáfases mitóticas, foram realizadas culturas de linfócitos no laboratório de Citogenética Humana do Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP, Botucatu (SP), conforme descrito a seguir: preparação da Cultura: 4,0 mL de meio de cultura RPMI 1640 (Gibco); 1,0 mL de soro fetal bovino (Cultilab); 0,4 mL de fito-hemaglutinina M (Difco); 10-20 gotas de sangue total. As culturas, em número de duas por indivíduo, foram mantidas em estufa a 37°C, por 72 horas. Após 67 horas de incubação, foi acrescentado 0,1 mL de bleomicina, na concentração final de 0,03 U/mL, em apenas uma das culturas de cada indivíduo. Após 71 horas de incubação, foi adicionado 0,2 mL de colchicina na concentração de 0,0004 mg/mL em ambas culturas de cada indivíduo. A seguir, o material foi retirado do frasco de cultura e transferido para tubo de centrifuga e centrifugado por 10 minutos a 1.000 rpm. A seguir, procedeu-se à Hipotonização e Fixação, feita com solução de KCl a 0,075M, aquecida a 37°C, por 30 minutos e foi interrompida com 4 gotas de fixador Carnoy (metanol: ácido acético - 3:1). A fixação foi feita com metanol: ácido acético (3:1, respectivamente), por 30 minutos, no mínimo. Após a fixação, o material foi centrifugado por 5 minutos a 1.000 rpm, o sobrenadante foi desprezado e, então, adicionado 5 mL de fixador novo. Nova centrifugação foi feita, o sobrenadante foi desprezado e este procedimento repetiu-se por mais duas vezes. Cerca de 4 gotas do material foram gotejadas delicadamente sobre lâminas limpas e geladas. Após a secagem delas em temperatura ambiente, foi feita a coloração com solução de Giemsa, em tampão Sorensen, durante 4 minutos (uma gota de Giemsa: 1,0 mL de tampão).

As alterações cromossômicas foram classificadas de acordo com a Conferência de Paris (1972) e ISCN (1985) em quebras e falhas do tipo cromatídicas e cromossômicas.

Para cada indivíduo e para cada tipo de cultura, após a análise de 50 metáfases em teste cego, foi calculado o número médio de quebras por célula (q/c). Os valores inferiores a 0,80 indicam baixa suscetibilidade à bleomicina e valores acima de 0,80

indicam altas suscetibilidade à droga (HSU, 1986; HSU; CHERRY; SAMAAN, 1985; ).

Foi observado ainda, em qual braço (p ou q) e em qual região cromossômica (distal, mediana ou proximal) ocorreu a alteração. Considerou-se como região proximal àquela localizada imediatamente após o centrômero, a região mediana àquela correspondente ao trecho médio do cromossomo e a região distal à porção final do cromossomo.

Foram também calculadas as frequências absolutas e relativas de anomalias cromossômicas, discriminadas pelos cromossomos ou grupos cromossômicos em cada uma das amostras. Estas foram comparadas com as frequências casualmente esperadas em função do tamanho relativo de cada cromossomo ou grupo cromossômico, de acordo com a Conferência de Paris (1972).

Foram coletados os seguintes dados dos operários: tempo de exposição ao chumbo em anos/ meses; quantidade de chumbo no sangue; dispositivos de proteção (máscara, luvas, óculos, etc); sintomatologia; alimentação; idade. Os indivíduos que serviram como controle do experimento também foram questionados quanto aos itens: alimentação e idade, para pareamento com os expostos e foram questionados quanto aos itens: uso de medicamentos; exposição à Raio X.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os operários apresentaram valores de chumbo no sangue entre 10,0 a 75,0 (g/ 100mL). Foi observado que 5 operários apresentaram frequência de quebras espontâneas acima de 0,07, valor limite esperado para a população normal (HOPWOOD et al., 1989).

Os valores de quebras espontâneas por célula variaram de 0,00 a 0,27 no grupo dos operários expostos ao chumbo e de 0,00 a 0,06 no grupo controle. Os valores de quebras por célula com BLM variaram de 0,06 a 1,32 no grupo dos operários e de 0,02 a 0,16 no grupo controle.

Os valores de *gaps* por célula sem BLM variaram de 0,00 a 0,16 no grupo dos operários e de 0,00 a 0,02 no grupo controle e com BLM variaram de 0,00 a 0,36 no grupo dos operários e de 0,00 a 0,04 no grupo controle.

Nenhum indivíduo do grupo controle apresentou valores de quebras por célula superior a 0,80. Em relação ao grupo com exposição ao chumbo, apenas um operário apresentou sensibilidade à BLM (quebras/célula = 1,32).

TABELA 1. Resultado do teste estatístico da comparação entre operários (OP) e controles (Contr.).

Situação	Mediana	Estatístico	Conclusão
q/c sem BLM	OP= 0,06 CONTR= 0,00	U= 41,0 p<0,05	OP<Contr.
q/c com BLM	OP= 0,16 CONTR= 0,06	U= 27,0 p<0,02	OP>Contr.
gaps/sem BLM	OP= 0,12 CONTR= 0,00	U= 49,0 0,05<p<0,10	OP>Contr.
gap/c com BLM	OP= 0,04 CONTR= 0,00	U= 37,5 p<0,02	OP>Contr.

A tabela 1 mostra o resultado do teste não-paramétrico de *Mann-Whitney* utilizado para verificar uma possível diferença significativa entre operários e controles normais, nas culturas sem e com BLM.

Foi observada diferença significativa entre o número médio de quebras e *gaps* por célula entre os operários expostos e o grupo controle tanto para as culturas sem ou com BLM, exceto para o número de

culturas sem ou com BLM, exceto para o número de *gaps/c* sem BLM que não apresentou resultado significativo.

A tabela 2 apresenta o resultado do teste não-paramétrico de *Wilcoxon* para amostras dependentes utilizado para verificar uma diferença nos valores de q/c e *gap/c* em operários e controles, sem e com BLM.

Tabela 2. Resultado de teste estatístico de comparação de q/c e gap/c com BLM e sem BLM em operários (OP) e controles (Contr.)

Situação	Mediana	Estatístico	Conclusão
q/c em OP	sem BLM=0,06 com BLM=0,16	T=5 p<0,01	sem BLM < com BLM
gap/c em OP	sem BLM=0,02 com BLM= 0,04	T=20 p>0,05	sem BLM = com BLM
q/c nos CONTR	sem BLM= 0,00 com BLM= 0,06	T=0 p<0,01	sem BLM < com BLM
gap/c nos CONTR	sem BLM= 0,00 com BLM= 0,00	T=2 p>0,10	sem BLM = com BLM

TABELA 3. Resultado do teste estatístico da comparação entre fumantes x não fumantes; nível 1 x nível 2; idade 1 x idade 2, sem BLM e com BLM.

Situação	Resultado do teste estatístico		Conclusão
Fumantes x não fumantes	sem BLM	p > 0,05	Fum = Não Fum
	com BLM	p > 0,50	Fum = Não Fum
	sem BLM	p > 0,30	Nível 1 =Nível 2
Nível 1(0-40 (g/100 mL) x Nível 2(>40 (g/100 mL)	com BLM	p > 0,10	Nível 1=Nível 2
	sem BLM	p > 0,50	Idade 1=Idade 2
Idade 1 x Idade 2 (<32) (>32)	com BLM	p > 0,50	Idade 1=Idade 2

Foi observada diferença significativa entre o número de q/c em operários e controles sem BLM e com BLM. Porém, não foi observada diferença significativa para o número de *gap/c* em operários e controles sem BLM e com BLM.

Embora tenha sido significativa a diferença entre operários e controles, quando tratados com BLM, não se nota diferença significativa quando se analisa a frequência de quebras nos diferentes cromossomos ou grupos cromossômicos ( $p > 0,05$ ).

Para as regiões proximal, mediana e distal, quando se compara operários e controles obteve-se um  $\chi^2$  corrigido igual a 80,27 ( $p < 0,001$ ). Desta forma, as diferenças de q/c entre os grupos controle e operário apresentam-se altamente significativas quando se consideram as diferentes regiões de quebras. Ainda nesta mesma análise verificou-se que as regiões proximais e distais não apresentaram diferenças significativas, o mesmo não ocorrendo quanto à região mediana, que se mostrou mais atingida por quebras.

A tabela 3 mostra o resultado do teste t de *Student* utilizado para verificar uma possível diferença significativa entre fumantes x não fumantes; nível de intoxicação 1 (0-40 (g/ 100mL de chumbo) x nível de intoxicação 2 (> 40 (g/ 100mL de chumbo); idade 1 (< 32 ) x idade 2 (> 32), sem BLM e com BLM. Não foi observada diferença significativa em nenhuma das situações analisadas.

## DISCUSSÃO

Não foi detectada relação entre a incidência de aberrações cromossômicas por pessoa e o nível sanguíneo de chumbo ou o tempo de exposição.

Os valores de quebras espontâneas, observadas em cinco operários, foram superiores ao limite de 0,07. Podemos sugerir a participação do chumbo, neste processo.

Somente um trabalhador (operário 1) mostrou-se sensível à bleomicina e nenhum indivíduo do grupo controle apresentou sensibilidade à droga. É possível um efeito sinérgico entre chumbo e bleomicina, pois embora os valores não tenham excedido o limite (>0,80), foi notório o aumento de quebras nas culturas incubadas com a droga, exceto para o operário de nº 4.

O ataque oxidativo da bleomicina ao DNA ocasiona a formação de radicais livres  $\text{OH}^\cdot$  e  $\text{O}_2^\cdot$ , os quais aumentam o número de quebras (SOUZA, 1989).

Sirover e Loeb (1976) relataram que sais de chum-

bo têm sido considerados como diminuidores da fidelidade da replicação do DNA e como inibidores da DNA polimerase (enzima considerada envolvida no reparo do DNA).

O chumbo pode introduzir cortes dentro do DNA cromossomal, inibir a ligação de cortes pré-existentes ou ambos. O chumbo teve um grande efeito na incorporação de nucleotídeos da DNA polimerase I pela *Escherichia coli*. Foi sugerido que a polimerase ou a ligase de reparo foi inibida. É mais provável um efeito inibitório da DNA ligase, pois os sítios de cortes foram aumentados e a atividade da polimerase endógena não foi inibida (ROY; ROSSMAN, 1992).

Outro aspecto que deve ser considerado nessa discussão são os fatores da dieta, pois estes influem enormemente na retenção do chumbo. A intoxicação por chumbo pode ser agravada quando a alimentação for deficiente em cálcio, proteína, fosfato, ferro e zinco. As vitaminas E e D também influenciam na retenção de chumbo. Dietas pobres em cálcio podem aumentar a absorção de chumbo, porque o cálcio compete com o chumbo pelas proteínas de ligação em sítios de absorção (GERBER; LEONARD; JACQUET, 1980). No presente estudo, o operário 2 teve uma frequência de quebras espontâneas acima de 0,07, limite superior do valor considerado normal, e este possuía uma alimentação bem restrita quanto ao elemento cálcio e não utilizava nenhum mecanismo de proteção, como luvas, máscara e óculos. Outros operários (de números 3, 4, 5 e 6) também apresentaram valores de quebras espontâneas acima do limite de 0,07, porém nenhuma relação com deficiência de algum elemento alimentar foi constatado e, exceto o operário 6, todos utilizavam medidas de proteção.

A análise estatística em relação às frequências maiores de q/c espontâneas entre Operários e Controles ( $p < 0,05$ ) mostrou que os resultados estão de acordo com o obtido por Nordenson et al. (1978), que verificaram uma diferença altamente significativa ( $p < 0,001$ ) para quebras cromatídicas. Nossos resultados não mostraram significância para a frequência de *gap/c* ( $0,05 < p < 0,10$ ) entre Operários e Controles, e diferem daqueles obtidos por Nordenson et al. (1978) que observaram diferença significativa ( $p < 0,01$ ) para a mesma situação.

Ao se acrescentar a Bleomicina observou-se uma diferença significativa ( $p < 0,02$ ) para a frequência de *gap/c* entre Operários e Controles, podendo sugerir a existência de um efeito sinérgico entre o chumbo e a

bleomicina que poderia dificultar a rápida atuação do mecanismo reparador de erros.

A substituição do cálcio pelos íons de chumbo em sítios de significativa funcionalidade pode ser mais importante do que o efeito do cálcio na absorção e na distribuição do chumbo. O chumbo pode substituir o cálcio na calmodulina, proteína específica do cálcio que estimula a variedade de enzimas, incluindo a proteína quinase dependente de cálcio. A proteína C quinase é um receptor de tumores e os produtos de *genes* de alguns proto-oncogenes, tais como *c-fos* e *c-myc*, são alvos potenciais da ação da proteína C quinase (NISHIZUKA, 1986 *apud* MAGOS, 1991).

A exposição de espécies de oxigênio ativo em organismos aeróbicos é contínua e inevitável. De fato, os mecanismos de oxidação-redução foram largamente adaptados aos processos de função e regulação celular. Os efeitos de um meio oxidativo têm conseqüências perniciosas. A oxidação de bases do DNA pode ocorrer continuamente. A cromatina pode oferecer alguma proteção contra danos ao DNA oxidativo e processos de reparo específicos podem prevenir ou corrigir mutações oxidativas. Entretanto, oxidantes de origem endógeno e exógeno podem neutralizar as defesas celulares e mutações podem e devem ocorrer (GUYTON; KENSLER, 1993).

Estudos epidemiológicos (Cohen et al., 1989) sugerem que a exposição decorrente da atividade ocupacional a partículas de chumbo danifica a imunidade dos trabalhadores expostos. O sistema imune é crucial para a proteção do indivíduo contra agentes infecciosos que desenvolvem neoplasmas. Os macrófagos, juntamente com outras células imunes e não imunes e uma variedade de fatores solúveis, desempenham um papel central na mediação destas respostas na parte interna do pulmão. O aumento ou a diminuição de qualquer função essencial do macrófago poderia potencialmente alterar o balanço necessário para a imunoregulação do pulmão e, desse modo, produzir uma cascata de eventos secundários detrimental, danos de tecido ou possivelmente câncer.

Variações intra-individual são encontradas na população, em resposta a exposição "in vitro" e "in vivo", e podem ser devidas a fatores genéticos, desde que muitos dos agentes genotóxicos precisem ser ativados metabolicamente para serem efetivamente ativos e as enzimas envolvidas no processo de ativação estão sob controle genético. Nesse trabalho assim como em

muitos outros estudos ocupacionais de agentes clastogênicos a heterogeneidade entre os indivíduos pode ser muito grande, visto que existe uma ampla diferença individual possivelmente devido ao genótipo em relação à suscetibilidade a danos cromossômicos, capazes de modificar a resposta do organismo em presença do chumbo. Foi observado que os valores de quebras espontâneas por célula variaram de 0,00 a 0,27 no grupo dos operários expostos ao chumbo e de 0,00 a 0,06 no grupo controle. Os valores de quebras por célula com bleomicina variaram de 0,06 a 1,32 no grupo dos operários e de 0,02 a 0,16 no grupo controle, sugerindo a possível variação entre indivíduos com chumbo e sem chumbo e com bleomicina e sem bleomicina.

Diferenças genéticas devem alterar as respostas individuais a compostos estranhos por afetar a absorção, ligação, distribuição, excreção, biotransformação ou interação droga-droga (NEBERT; FELTON, 1976).

A contagem de aberrações cromatídicas e cromossômicas pode ser relativamente subjetiva e isto explica os resultados aparentemente discordantes relatados por diferentes laboratórios (UZYCH, 1985).

É relevante salientar que a amostra analisada foi pequena e estudos adicionais se fazem necessários.

## CONCLUSÃO

Os resultados permitem sugerir que o chumbo é um agente clastogênico leve às células humanas e que vários mecanismos poderiam ser responsabilizados por tal processo: a) efeito sinérgico entre bleomicina e chumbo; b) efeito sinérgico entre chumbo e outros elementos essenciais como ferro, cálcio e zinco; c) ligação do chumbo com um grande número de sítios bioquímicos, podendo inibir um grande número de enzimas portadoras de grupos sulfidrilas (DNase, RNase); d) afinidade do chumbo por ligantes como fosfatos (podendo alterar a configuração dos ácidos nucleicos); e) o chumbo como diminuidor da fidelidade da replicação do DNA e inibidor da DNA polimerase; f) interação do chumbo com o DNA provocando quebras ou impedindo o funcionamento adequado dos mecanismos de reparo e g) o chumbo gerando radicais hidroxil na presença de peróxido de hidrogênio e estes podendo causar quebras ao DNA.

É importante que se analisem os fatores genéticos quando se investiga a toxicidade dos metais pesados, pois há uma ampla variabilidade genética entre

os indivíduos (diferenças genéticas devem alterar a absorção, ligação, distribuição e biotransformação e excreção-fagocitose).

## ABSTRACT

The lead is an ancient pollutant of the environment and the effects of this poisonous element to the genetic material is still uncertain. The aim of this research was to verify if workers professionally exposed to lead have or have not more susceptibility to bleomycin and if these same subjects show increased frequencies of spontaneous chromosomal breaks. Thirteen professionally exposed individuals were analysed cytogenetically, through lymphocyte cultures from peripheral blood, matched by age and sex with thirteen control subjects. Only one exposed individual was sensitive to bleomycin (1,32) and none of the subjects of the control group showed sensitivity to the drug. It was observed a significant difference in the average number of breaks and gaps per cell between the two analysed groups, even in the cultures with or without bleomycin. Cultures without bleomycin did not show a significant difference. It was not observed a significant difference in the frequencies of breaks in different chromosomes or chromosomal groups. The chromosomal region most affected by breaks was the medium one. The clastogenic effect observed was in accordance with the results from other studies. Many factors can interact with lead and many ways of action can be suggested, such as, modification of the normal enzymatic function involved in the repair and replication of DNA, the production of hydroxyl radicals and the genetic variability due to the susceptibility to the lead effects among the individuals.

## KEY-WORDS

Lead. Chromosomal aberrations. Toxicity. Contamination.

## REFERÊNCIAS

AL-HAKKAK, Z. S. et al. Chromosome aberration in workers at a storage plant in Iraq. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 1, n. 171, p. 53-60, July 1986.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. *Toxicological profile for lead*. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1999

BAUCHINGER, M. et al. Chromosome analyses of children after ecological lead exposure. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 120, n. 4, p. 249-256, June 1983.

*Research*, Amsterdam, v. 56, n.1, p. 75-80, Sept.1977.

BUSCHINELLI, J. T. P. Avaliação e retrospectiva crítica das seqüelas neurológicas e comportamentais em razão da absorção de chumbo inorgânico. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v. 12, n. 45, p. 7-41, 1984.

CHEH, A.; NEILANDS, J. B. Zinc, an essential metal for beef liver delta-aminolevulinatase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, New York, v. 55, n. 4, p. 1060-1063, Dec. 1973.

CERRY, L. M.; HSU, T. C. Bleomycin - induced chromosome damage in lymphocytes of medullary thyroid carcinoma patients and their family members. *Anticancer Res.*, v. 3, n. 6, p. 367-372, Nov./Dec. 1983.

COHEN, N. et al. Increased concanavalin A-induced suppressor cell activity in humans with occupational lead exposure. *Environ. Res.*, New York, n. 1, v. 48, p. 1-6, Feb. 1989.

CONFERÊNCIA DE PARIS. *Standardization in human cytogenetics. Birth Defects*: New York: The National Foundation New York, 1972. (original articles series,7) v.8

DALPRA, L. et al. SCE analysis in children exposed to lead emission from a smelting plant. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 120, n. 4, p. 249-256, June 1983.

DEKNUDT, G.; LEONARD, A.; IVANOV, B. Chromosome aberrations observed in male workers occupationally exposed to lead. *Environ. Physiol. Biochem.*, Denmark, v. 3, n. 3, p. 132-138, Feb. 1973.

DOUGLAS, G. R. et al. Effect of lead chromate on chromosome aberration, sister-chromatid exchange and DNA damage in mammalian cells in vitro. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 77, n. 8, p. 157-163, Feb. 1980.

FERM, V. H. The syneratogenic effect of lead and cadmium. *Experientia.*, v. 25, n. 1, p. 56-57, Jan. 1969.

FORNI, A. et al. Chromosome and biochemical studies in women occupationally exposed to lead. *Arch Environ. Health.*, United States, v. 35, n. 3, p. 139-146, May/June 1980.

FORNI, A.; CAMBIAGHI, G.; SECCHI, G. C. Chromosome and biochemical studies in women occupationally

- exposed to lead. *Arch. Environ. Health*, v. 35, n. 3, p. 139-146, May/June, 1980.
- GERBER, G. B.; LEONARD, A.; JACQUET, P. Toxicity mutagenicity and teratogenicity of lead. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 76, n. 2, p. 115-141, Sep. 1980.
- GOYER, R. A.; MAHAFFEY, K. R. Susceptibility to lead toxicity. *Environmental Health. Perspect.*, v. 2, p. 73-80, Oct. 1972.
- GOYER, R. A. Lead toxicity: current concerns. *Environmental Health Perspectives*, v. 100, p. 177-187, Apr. 1993.
- GRANDJEAN, P.; WULF, H. C.; NIEBUHR, E. Sister chromatid exchange in response to variations in occupational lead exposure. *Environmental Research.*, New York, v. 32, n. 1, p. 199-204, Oct. 1983.
- GUYTON, K. Z.; KENSLER, T. W. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *British Medical Bulletin*, v. 49, n. 3, p. 523-544, Jul. 1993.
- HOGSTEDT, B. et al. Micronuclei and chromosome aberrations in bone marrow cells and lymphocytes of human mainly to petroleum vapors. *Hereditas*, v. 94, n. 2, p. 179-187, 1981.
- HOPWOOD, V. et al. Cytogenetic characteristics in a family: fragile 16q22, giant satellite, aneuploidy, and bleomycin sensitivity of three generations. *Rev. Brasil. Genet*, v. 12, 379-390, 1989.
- HSU, T. C. Genetic susceptibility to carcinogenesis. *Cancer Bull*, v. 38, n. 3, p. 125-128, 1986.
- HSU, T. C.; CHERRY, L. M.; SAMAAAN, N. A. Differential mutagen susceptibility in cultured lymphocytes of normal individuals and cancer patients. *Cancer Genet. Cytogenet*, v. 17, n. 4, p. 307-313, Aug. 1985.
- HSU, T. C. et al. Sensitivity to genotoxic effects of bleomycin in humans: possible relationship to environmental carcinogenesis. *Int. J. Cancer*, v. 43, n. 3, p. 403-409, Mar. 1989.
- IARC. Some Metals and Metallic Compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of chemicals to humans. *International Agency for Research on Cancer*, Lyon, v. 23, p. 1-210, 1980.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Some metals and Metallic Compounds, Lyon, v. 23, Apr. 1980. Disponível em: <[http://www\\_cie.iarc.fr/htdacs/index/vol23index.html](http://www_cie.iarc.fr/htdacs/index/vol23index.html)>. Acesso em: 22 ago. 2005.
- ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, Mitelman F. (ed); S. Karger, Basel, 1985.
- LARINI, L.; CARVALHO, D. D.; SALGADO, P. E. T. Chumbo: Exposição e efeitos tóxicos. *Rev. Bras. Saúde Ocup.* v. 10, n. 37, p. 13-18, 1982.
- MAGOS, L. Epidemiological and experimental aspects of metal carcinogenesis: physicochemical properties, kinetics, and the active species. *Environmental Health Perspectives*, v. 95, p. 157-189, Nov. 1991.
- MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 9, n. 1, p. 167-181, 2004.
- NEBERT, D. W.; FELTON, J. S. Importance of genetic factors influencing the metabolism of foreign compounds. *Fed. Proc*, v. 35, n. 5, p. 1133-1141, Apr. 1976.
- NOLAN, C. V.; SHAIKH, Z. A. Lead nephrotoxicity and associated disorders: biochemical mechanisms. *Toxicology*, v. 73, n. 2, p.127-146, 1992.
- NORDENSON, I. et al. Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. *Hereditas*, v. 88, n. 2, p. 263-267, 1978.
- ONO, T. et al. Action of bleomycin on the DNA ligase and polymerase. *Prog. Biochem. Pharmacol*, v. 11, p. 48-58, 1976.
- RIORDAN, M. L.; EVANS, H. J. Absence of significant chromosome damage in males occupationally exposed to lead. *Nature*, v. 24, n. 4, p. 50-53, Jan. 1974.
- ROY, N. K.; ROSSMAN. Mutagenesis and comutagenesis by lead compounds. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 298, n. 2, p. 97-103, Dec. 1992.

SCHANTZ, S. P.; SPITZ, M. R.; HSU, T. C. Mutagem sensitivity in patients with head and neck cancers: a biologic marker for risk of multiple primary malignancies. *J. Nat.Canc.*, v. 82, n. 22, p. 1773-1775, Nov. 1990.

SILVA, J. M. G. C.; SANTOS-MELLO, R. Chromosomal aberrations in lymphocytes from car painters. *Mutation Research, Amsterdam*, v. 368, n. 1, p. 1-25, May 1996.

SIROVER, M. A.; LOEB, L. A. Infidelity of DNA synthesis in vitro: screening for potential metal mutagens or carcinogens. *Science*, v. 194, n. 4272, p. 1434-1436, Dec. 1976.

SIX, K. M.; GOYER, R. A. Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium. *J. Lab. Clin. Med.*, v. 76, n. 6, p. 933-942, 1970.

SOUZA, P. E. Agressão pela bleomicina (BLM): mecanismo de lesão e reparo do ácido desoxirribonucléico (DNA).1989. 16 p. Não-publicado.

TACHI, K. M.; NISHIMAE, S. B.; SAITO, K. M. D. Cytogenetic effects of lead acetate on rat bone marrow cells. *Archives of Environmental Health*, v. 40, n.3, p.144-147, May/Jun. 1985.

UZYCH, L. Teratogenesis and mutagenesis associated with exposure of human males to lead: a review. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, v. 58, n. 1, p. 9-17, Jan./Feb. 1985.

YEAGER, D. W.; CHOLAK, J.; HENDERSON, E. W. Determination of biological and related material by atomic spectrophotometry. *Envir. Science of Technology*, v. 5, n. 10, p.1020-1022, 1971.

YUNIS, J. J. The chromosomal basis for human neoplasia. *Science*, v. 221, p. 227-236, 1984.

ZELIKOFF, J. T. et al. Genetic toxicology of lead compounds. *Carcinogenesis*, v. 9, n. 10, p. 1727-1732, 1988.

**Agnes Barbério**

Departamento de Biologia da Universidade de Taubaté  
e-mail: anesbarberio@uol.com.br

**Edmundo José de Lucca**

Instituto de Biociências - Departamento de Genética  
UNESP - Botucatu

**TRAMITAÇÃO**

Artigo recebido em: 26/10/2004

Aceito para publicação em: 22/03/2005