

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

LUIZ ALAN ZUKOSKI CORRÊA DA ROSA

**AVALIAÇÃO DE FATOR DE RISCO OCUPACIONAL NO SETOR DE
FABRICAÇÃO DE TINTAS EM UMA FÁBRICA LOCALIZADA NA
REGIÃO SUL DE SANTA CATARINA**

CRICIÚMA, JANEIRO DE 2009.

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LUIZ ALAN ZUKOSKI CORRÊA DA ROSA

**AVALIAÇÃO DE FATOR DE RISCO OCUPACIONAL NO SETOR DE
FABRICAÇÃO DE TINTAS EM UMA FÁBRICA LOCALIZADA NA
REGIÃO SUL DE SANTA CATARINA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora:
Profa. Dra. Vanessa Moraes de Andrade

CRICIÚMA, JANEIRO DE 2009.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R788a Rosa, Luiz Alan Zukoski Corrêa da.

Avaliação de fator de risco ocupacional no setor de fabricação de tintas em uma fábrica localizada na região sul de Santa Catarina / Luiz Alan Zukoski Corrêa da Rosa; orientadora: Vanessa Moraes de Andrade. -- Criciúma: Ed. do autor, 2009.

62 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2009.

1. Medicina do trabalho. 2. Saúde ocupacional. 3.

Bibliotecária: Flávia Caroline Cardoso – CRB 14/840

Biblioteca Central Prof. Eurico Back – UNESC



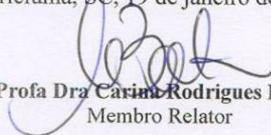
UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

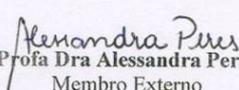
PARECER

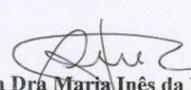
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado apresentado pelo candidato **LUIZ ALAN ZUKOSKI CORREA DA ROSA** sob o título “Avaliação de risco ocupacional no setor de fabricação de tintas em uma fábrica localizada na região sul de Santa Catarina” para obtenção do grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

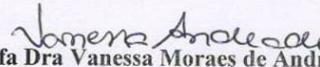
Após haver analisado o referido trabalho e argüido ao candidato, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito C .

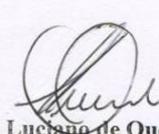
Criciúma, SC, 19 de janeiro de 2009.


Prof. Dra. Carina Rodrigues Boeck
Membro Relator


Prof. Dra. Alessandra Peres
Membro Externo


Prof. Dra. Maria Inês da Rosa
Membro Interno


Prof. Dra. Vanessa Moraes de Andrade
Orientador


Prof. Dr. João Luciano de Quevedo
Coordenador do PPGCS

Dedico esta dissertação aos meus filhos Rafael, Alice e Henrique, pelo apoio nesta etapa de minha vida.

Aos meus pais Waldir e Lea.

A minha esposa Ana pela compreensão para que esta dissertação pudesse ser concluída com êxito.

Agradecimentos.

Agradeço a Deus por estar sempre presente neste jornada.
Agradeço a minha orientadora Vanessa pela tolerância e grande ajuda para que fosse possível concluir esta dissertação.
Agradeço a importante e essencial ajuda dos bolsistas e estagiários Gracilene Pagani Dagostin, Arielle da Silva Mota, Priscila Tavares e Hugo Martins de Oliveira.

RESUMO

O objetivo do presente estudo é avaliar os danos genéticos induzidos em linfócitos do sangue periférico e células da mucosa oral em trabalhadores de indústria de tintas. O ensaio cometa em linfócitos de sangue periférico e em células da mucosa oral e o teste do micronúcleo em células da mucosa oral foram empregados para avaliação de genotoxicidade. Para o teste do micronúcleo em células bucais exfoliadas, nenhuma diferença significativa foi detectada entre o grupo controle e os trabalhadores em indústria de tintas. O ensaio Cometa em células do epitélio bucal mostraram que o Índice de Dano (DI) e Frequência de Dano (DF) observada no grupo exposto foram significativamente maiores em relação ao grupo controle ($P \leq 0,05$). Da mesma forma, os dados do ensaio Cometa em leucócitos no sangue periférico mostrou que ambos os parâmetros para análise do presente ensaio (DI e DF) foram significativamente maiores do que para o grupo controle ($P \leq 0,05$). A exposição profissional crônica relacionada com fabricação de tintas, pode ocasionar um sensível aumento do risco de dano genético entre trabalhadores da indústria de fabricação de tintas.

Palavras-chave:

Ensaio Cometa; Teste do Micronúcleo; Trabalhadores em Indústria de Tintas; Células da Mucosa Oral.

ABSTRACT

Objectives: The aim of the present study was to evaluate genome damage induced in peripheral blood lymphocytes and oral mucosa cells from paint-industry workers. **Methods:** The alkaline Comet assay in blood lymphocytes and mucosa oral cells and the Micronucleus test in cells mucosa oral were employed for genotoxicity evaluations. **Results:** For the micronucleus test in buccal exfoliated cells, no significant difference was detected between the control and paint industry workers. The Comet assay in epithelia buccal cells showed that the Damage Index (DI) and Damage Frequency (DF) observed in the exposed group were significantly higher relative to the control group ($P \leq 0.05$). In the same way, the Comet assay data in peripheral blood leukocytes showed that both analysis parameters of this assay (DI and DF) were significantly greater than that for the control group ($P \leq 0.05$). **Conclusions:** Chronic occupational exposure to paints may lead to a slightly increased risk of genetic damage among paint industry workers

Key-words: Alkaline Comet Assay; Micronucleus Test; Paint-industry workers; Oral mucosa cells.

LISTA DE ABREVIATURAS

MN – Micronúcleos

CA – Aberrações cromossômicas

SCE – Troca de cromátides irmãs

HA – Ácido hipúrico

DI – Índice de dano

DF – Frequência de dano

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 09 |
| 1.1 RISCO OCUPACIONAL | 09 |
| 1.2 AVALIAÇÃO GENOTÓXICA DO RISCO OCUPACIONAL | 13 |
| 1.3 ENSAIOS GENÉTICOS USADOS NA AVALIAÇÃO DE RISCO OCUPACIONAL | 17 |
| 1.4 RISCO OCUPACIONAL X SOLVENTES ORGÂNICOS | 18 |
| 2 OBJETIVOS | 21 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 21 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 21 |
| 3 RESULTADOS: ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO | 22 |
| 4 DISCUSSÃO | 47 |
| 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 54 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Risco Ocupacional

Doença ocupacional é descrita desde tempos remotos, como um fator gerador e modificador das condições de viver, adoecer e morrer dos homens (Frias & Silva, 1999) e a relação entre trabalho, saúde e doença foi expressa em obras de artistas, historiadores e filósofos. Hipócrates descreveu o quadro clínico da intoxicação saturnina, Plínio (naturalista romano) o aspecto dos trabalhadores expostos ao chumbo, mercúrio e poeiras, Agrícola (médico saxão do século XVI) sobre a “asma dos mineiros”, conhecida hoje como silicose e Paracelso (médico suíço) a intoxicação pelo mercúrio (Margotta, 1998).

Em 1700, o médico italiano Bernardino Ramazzini foi considerado o pai da Medicina do Trabalho com a publicação do livro “As doenças dos trabalhadores”. Relacionou 54 profissões e descreveu os principais problemas de saúde apresentado pelos trabalhadores, chamando a atenção para a necessidade dos médicos conhecerem a ocupação atual e pregressa destes pacientes para relacionarem com sua doença atual, fazendo diagnósticos corretos e adotando procedimentos adequados para sua prevenção (Mendes, 1995).

A medicina do trabalho pode ser definida como uma especialidade que lida com as relações entre a saúde de homens e mulheres e seu trabalho, visando além da prevenção de doenças e acidentes de trabalho, a promoção da saúde e qualidade de vida relacionados com o seu ambiente de trabalho.

Com a Revolução Industrial, que teve início na Inglaterra no século XVIII (1760 – 1850), ocorreram transformações radicais nas condições de vida social e de

trabalho. As condições de trabalho eram péssimas, os acidentes eram numerosos, não havia limite na jornada de trabalho, e muitos problemas se deviam a ambientes fechados e máquinas sem proteção, disseminando inclusive doenças infecto contagiosas (Mendes,1995).

No Brasil a primeira lei sobre acidentes do trabalho foi aprovada em 15 de janeiro de 1919 (decreto legislativo nº 3.724). Posteriormente, na década de 70, foi regulamentada no Brasil a obrigatoriedade dos serviços de segurança e medicina do trabalho nas empresas acima de determinado porte e grau de risco (Rocha et al., 1994).

Mesmo com medidas preventivas cada vez mais rígidas adotadas pelos órgãos de fiscalização, ainda é corrente a detecção de lesões originadas pela exposição irregular dos trabalhadores aos produtos tóxicos presentes em seu ambiente de trabalho. Devido a exposição a estes produtos, podemos encontrar neoplasias, que são doenças caracterizadas pela perda de controle do processo de divisão celular, por meio do qual os tecidos normalmente crescem e/ou se renovam, levando a multiplicação celular desordenada. A oncogênese pode ser ativada por agentes ambientais atuando sobre determinados genes, sendo um processo multifatorial onde estão envolvidos a predisposição genética ou induzida por fatores secundários ambientais ou virais (MS, 2001).

Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2005), o Ministério da Saúde está elaborando e executando projetos que visam a redução, a eliminação ou o controle de agentes cancerígenos presentes no meio ambiente e nos ambientes de trabalho. Nos ambientes de trabalho podem ser encontrados agentes cancerígenos como o amianto, a sílica, solventes aromáticos como o benzeno, metais pesados como o níquel e o cromo, a radiação ionizante e alguns agrotóxicos,

cujo efeito pode ser potencializado se for somada a exposição a outros fatores de risco para câncer como a poluição ambiental, dieta rica em gorduras trans, consumo exagerado de álcool, os agentes biológicos e o tabagismo (INCA, 2005). Os tipos mais freqüentes de câncer relacionados ao trabalho são o câncer de pulmão, os mesoteliomas, o câncer de pele, o de bexiga e as leucemias (INCA, 2005). O período de latência entre a exposição ao carcinógeno e o desenvolvimento da alteração celular é muito variável e longo, dificultando a correlação causal ou o estabelecimento do nexo entre a exposição e a doença, particularmente no caso dos cânceres relacionados ao trabalho (MS, 2001). Dentre as agências reguladoras, a IARC (International Agency for Research on Câncer) (IARC, 1987), comprovou ou considerou suspeitos de carcinogênese cerca de dois mil fatores de risco classificados em dois grandes grupo: Grupo 1: Fatores genéticos que explicam as diferentes suscetibilidades entre os indivíduos e a maior suscetibilidade em um mesmo grupo familiar. Grupo 2: Fatores ambientais que considera tabagismo, dietas ricas em gorduras saturadas, álcool, exposição solar excessiva, hábitos sexuais e de higiene pessoal e outros fatores sobre os quais os indivíduos não detêm controle, como as exposições ocupacionais (IARC, 1987).

As estimativas sobre a contribuição dos fatores ocupacionais no desencadeamento dos cânceres variam de 4 a 25%. A partir do estudo clássico de Percival Pott, no século XVIII, descrevendo o câncer de testículo em limpadores de chaminé, inúmeros outros trabalhos tem demonstrado uma maior freqüência de determinadas patologias em grupos populacionais específicos (MS, 2001). É estimado que em países industrializados aproximadamente 9% dos cânceres que atingem os homens são decorrentes de exposição ocupacional (MS, 2001). Outros

estudos estimam que a exposição ocupacional é responsável por pelo menos 4% dos casos de câncer em humanos (Nora, 2003).

Estima-se que existam cerca de 600.000 substâncias químicas conhecidas, das quais 50.000 a 70.000 tem uso industrial e que cerca de 3.000 novos produtos químicos sejam colocados anualmente no mercado por laboratórios e centros de pesquisa sem que se conheça perfeitamente os efeitos tóxicos sobre a saúde e seu potencial cancerígeno (MS, 2001). Entre as várias substâncias no ambiente industrial para as quais não existem estudos com respeito a carcinogenicidade em humanos, centenas tem se mostrado carcinogênicas para animais de laboratório e milhares tem demonstrado efeitos em testes de mutagenicidade ou genotoxicidade (Siemiatycki et al., 2004).

Milhões de trabalhadores em diversas configurações ocupacionais têm o potencial de serem expostos a substâncias perigosas. Estas substâncias, incluindo poeiras, fibras, substâncias químicas orgânicas ou inorgânicas, são utilizados como matérias-primas, intermediárias, subprodutos ou produtos finais em processos industriais. Eles podem existir na forma de gases, vapores, fumos, névoas ou partículas. A inalação é a principal via de exposição a estas substâncias, no entanto, a exposição também pode ocorrer por meio de absorção cutânea ou ingestão. Muitas dessas substâncias são conhecidas por serem genotóxicas e terem potencial para causar alterações genéticas em tecidos-alvo dos trabalhadores a elas expostos. Tais alterações, se ocorrerem em proto-oncogenes e genes supressores tumorais que estão envolvidos no controle do crescimento celular ou de diferenciação, pode levar ao desenvolvimento de câncer nos órgãos-alvo (Keshava & Ong, 1999).

Com isso, podemos afirmar que a saúde de trabalhadores expostos a algumas substâncias químicas está sujeita a uma multiplicidade de possíveis efeitos, tais como a teratogênese, a carcinogênese, a mutagênese e danos a órgãos-alvo específicos. A realidade é que, para a vasta maioria dos produtos químicos temos pouco ou nenhum dado sobre a toxicidade crônica. Mesmo quando os temos, não sabemos ao certo os efeitos químicos na função dos sistemas: respiratório, nervoso, endócrino, imunológico, reprodutivo ou em outras funções vitais do organismo como a molécula da vida, o DNA (Augusto & Freitas, 1998).

1.2 Avaliação genotóxica do risco ocupacional

É crescente a preocupação sobre o efeito mutagênico e carcinogênico de agentes genotóxicos em populações expostas ocupacionalmente, acidentalmente ou por estilo de vida é crescente. Estas substâncias podem afetar a saúde humana por sua disseminação no meio ambiente, mas os trabalhadores que manipulam rotineiramente estes agentes são os que constituem o maior grupo de risco, devido à constante exposição (Maluf & Erdtmann, 2000).

Agentes industriais, tais como o amianto, o diesel, emissão de partículas de poeira de madeira, cromo, arsênio, cloreto de vinilo, solventes, etc, são conhecidos por estarem associados a induzir o aumento de câncer (Loeb & Harris, 2008).

Um exemplo é o setor de fabricação de tintas, onde os trabalhadores ficam expostos a agentes potencialmente perigosos como os solventes aromáticos, pigmentos e resíduos plásticos (Netto, 2000; IARC 1989) Os componentes mais comumente encontrados como solventes no setor de pintura são o tolueno, benzeno, acetona e xileno, e alguns pigmentos metálicos podem conter

principalmente cromo e pequenas quantidades de chumbo (Netto, 2000). Estes produtos podem agir ainda como agentes tóxicos exercendo ação sobre a membrana celular, citoplasma e/ou núcleo da célula (Larini, 1999).

A definição "solventes orgânicos" inclui um conjunto heterogêneo de compostos líquidos utilizados como diluentes ou solubilizadores e com especial afinidade para moléculas lipofílicas. Atualmente a produção e utilização de tintas e cores representam a principal fonte de exposição ocupacional a solventes orgânicos. Na realidade 50% dos solventes são sintetizados e empregadas na produção de tintas e diluentes, onde o papel específico do solvente é evaporar-se depois de terem solubilizado e as tintas diluídas, que, aliás, são muitas vezes aplicados por pulverização (Costa et al., 2006).

Sabe-se que solventes orgânicos interagem com os ácidos nucléicos produzindo efeitos genéticos de forma imediata ou em longo prazo (Forster et al., 1994; Pitarque et al., 1999). O uso incorreto dos solventes nos locais de trabalho e a exposição a altos níveis destes compostos pode levar a acidentes de trabalho. Quanto maior o tempo e a frequência da exposição, maior a possibilidade de ocorrência de dano (Freitas & Arcuri, 2000). Para isso, é imprescindível para a sociedade o estabelecimento de normas de uso e controle de agentes potencialmente danosos. Geralmente, as normas são estabelecidas com base em estudos capazes de identificar substâncias que possuem potencialidades mutagênicas, carcinogênicas e/ou teratogênicas (Silva, 2003).

Existe pouca informação disponível sobre os efeitos citogenéticos de tintas à base de solventes orgânicos em trabalhadores que manipulam estes produtos. Mello-Silva e Santos (1996) relataram os resultados de monitoramento biológico de um grupo de 25 pintores que trabalham com pinturas de automóveis. Eles

encontraram uma frequência significativamente maior de cromossomos aneuploides e supressões nos linfócitos periféricos nos pintores de automóveis do que nos indivíduos controle. Steenland e Palu (Madhavi et al., 2008) relataram que existem vários agentes cancerígenos conhecidos ou suspeitos nas tintas, que provocam o aumento na incidência de câncer do pulmão e da bexiga entre os pintores. Mais recentemente, estudos genotóxicos *in vivo* têm demonstrado que as poeiras, fumos de tintas à base de chumbo podem causar danos cromossômicos que resultam em aumento significativo de aberrações cromossômicas hereditárias nos pintores (Madhavi et al., 2008). Em contraste, Cárdenas-Bustamante et al (2007) investigaram o grau de exposição a solventes orgânicos e conseqüências genotóxicas em trabalhadores que lidavam com tintas para pintura usando acompanhamento citogenético (frequência de micronúcleos e ensaio cometa) e encontraram que não houve diferença estatística em biomarcadores genéticos entre trabalhadores expostos e não expostos.

Pesquisas têm sido desenvolvidas para o biomonitoramento de populações humanas expostas a agentes mutagênicos, que podem ser feitos através da utilização de marcadores bioquímicos e genéticos, os quais incluem metodologias que detectam efeitos biológicos precoces como as mutações no DNA. Segundo Lowry (1995) existem dois tipos de Biomarcadores de exposição: (1) a medida quantitativa de uma substância química ou seus metabólitos em fluidos biológicos, e (2) a medida de uma alteração bioquímica precoce e reversível em fluídos biológicos que reflita a exposição.

O biomonitoramento de populações ocupacionais expostas a substâncias genotóxicas como os solventes orgânicos, tem o propósito de detectar efeitos genéticos que alertam sobre o risco de exposição (Cárdenas-Bustamante et al.,

2007). Porém o risco do trabalhador apresentar um dano também vai depender da intensidade da exposição ao produto, isto é, da quantidade do produto que está contaminando o ar que ele respira, ou a quantidade que cai na pele ou ainda quanto ele chega a ingerir. Depende também do tempo que o trabalhador fica exposto e à frequência com que ele trabalha com o produto. Quanto maior o tempo e a frequência da exposição, maior a possibilidade de ocorrência de dano (Freitas & Arcuri, 2000).

A medida de substâncias químicas ou seus metabólitos são os biomarcadores de exposição mais utilizados. O ácido hipúrico é o principal metabólito resultante da exposição ao tolueno e tem sido sugerido como um biomarcador para estimar a exposição tanto a baixas como a altas concentrações de tolueno (Heuser et al., 2005), mesmo em misturas de solventes (Pitarque et al., 1999, Burgaz et al., 2002, Çok et al., 2003).

Como a incidência de câncer e a mortalidade relacionada com a exposição ocupacional são detectáveis apenas após a exposição com o desenvolvimento do câncer ou morte, estudos com biomarcadores intermediários em trabalhadores saudáveis são importantes na avaliação do risco de carcinogenicidade, antes que tais eventos ocorram (Nora, 2003). São necessários mais esforços para se detectar e identificar essas substâncias no ambiente ocupacional, bem como para se estabelecer biomarcadores adequados relacionados com doenças quer seja em nível químico, fisiológico, celular e sub-celular, ou molecular, para facilitar a prevenção do câncer ocupacional (Keshava & Ong, 1999).

1.3 Ensaios genéticos usados na avaliação de risco ocupacional

Para avaliar esse efeito genotóxico pode se citar os biomarcadores mais utilizados, que são o teste de micronúcelos (MN), sendo um biomarcador de efeito que indica exposição a determinado agente e que reflete risco de doença individual, o qual permite detectar aneuploidia ou clastogenicidade e o Ensaio Cometa, considerado um biomarcador de exposição que nos últimos anos tem se tornado uma ferramenta importante em estudos de biomonitoramento para avaliação do risco de dano genético em populações humanas expostas, sendo então um método sensível para medir o rompimento de cadeias simples de DNA (Cárdenas-Bustamante et al., 2007; Faust et al., 2004; Kassie et al., 2000).

A análise citogenética de linfócitos do sangue periférico, foi aceita como uma técnica adequada para o controle biológico de dano genético em células somáticas desde o início dos anos 1970 (SRAM et al., 2004). No presente estudo foi utilizado o teste do micronúcleo em células esfoliadas da mucosa bucal e o ensaio cometa devido suas vantagens para o rastreamento de danos no DNA causados por agentes mutagênicos ambientais.

Micronúcleos são cromossomos inteiros ou fragmentos deixados para trás durante a divisão celular mitótica, e aparecem no citoplasma das células como pequenos núcleos adicionais. O teste micronúcleo (MN) é rápido e fácil podendo ser utilizado tanto *in vivo* e *in vitro* em uma variedade de células. Este teste também tem sido demonstrado que é um biomarcador sensível e confiável para o biomonitoramento humano (Kirsch-Volders et al., 2003). Teste do micronúcleo em células exfoliadas de tecido epitelial têm sido utilizados para avaliar os efeitos genotóxicos produzido por baixas doses de substâncias cancerígenas aos quais estão expostas as populações humanas (Keshava & Ong, 1999). A frequência de

MN em células humanas esfoliadas é considerado um útil biomarcador de efeitos genotóxicos em populações expostas, através do contato direto, ingerido ou inalado, de compostos genotóxicos (Salama et al., 1999).

Durante os últimos anos, tem havido um grande interesse no desenvolvimento de testes rápidos e simples para identificar os efeitos da exposição aos agentes ambientais que possam afetar a saúde das pessoas devido aos danos do DNA. Um desses métodos é a ensaio cometa, ideal para investigações em humanos porque não exige nenhuma pré-marcação com radioatividade ou outros procedimentos prejudiciais (Moller et al., 2000; Dusinska & Collins, 2008). À semelhança de outros testes de genotoxicidade, o ensaio cometa não é preditivo de risco de câncer individual, mas representa uma ferramenta útil para a avaliação precoce de efeitos genotóxicos devido à exposição ocupacional ou ambiental (Moller et al., 2000).

1.4 Risco ocupacional X solventes orgânicos

Raros estudos existem sobre danos ao DNA causados por agentes genotóxicos em pessoas expostas em unidades de fabricação de tintas. Citaremos um estudo realizado em trabalhadores que manuseiam estes compostos em pinturas externas estando em contato com os solventes usados na composição destes produtos. Os autores estudaram pintores de pinturas externas sem proteção (máscaras ou luvas) para determinar o risco de exposição ocupacional. Foram coletadas amostras de células bucais e sanguíneas dos trabalhadores expostos e de um grupo controle. Níveis de chumbo foram medidos nas amostras de tintas e no sangue dos indivíduos em estudo. Solventes orgânicos e seus metabólitos também foram também determinados no sangue. Aberrações cromossômicas (CA) e troca de

cromátides irmãs (SCE) foram determinadas em culturas de sangue periférico (linfócitos). A frequência de micronúcleo (MN) em células bucais também foi investigada. Pintores tiveram um alto índice de chumbo no sangue. CA e SCE em linfócitos e MN nas células epiteliais também foram elevados ($p < 0,05$). Dano citogênico foi significativamente associado com o tempo de exposição, mas não com os níveis de chumbo encontrado no sangue (Pinto et al., 2000). Esta carência de informações sobre o assunto nos levou a investigar os possíveis danos em DNA e colaborar para a proteção de pessoas expostas a estes agentes.

Estudo realizado em uma fábrica de produtos químicos para produção de lâminas de PVC, na Coréia do Sul, avaliou através de um biomonitoramento com o teste Trad-MCN (usando o vegetal *tradescantia*) a frequência de micronúcleos relacionado com a exposição a compostos orgânicos voláteis (tricloroetileno, tolueno, etil benzeno, xileno, estireno, trimetil benzeno) em vários pontos da indústria, mostrando aumento de micronúcleos relacionado com o tempo de exposição e uma correlação entre a frequência de micronúcleos e concentração de tolueno no ar (Kim et al., 2003). Estudo semelhante realizado na cidade de Uberlândia, um dos maiores centros atacadistas da América Latina, onde a qualidade do ar ambiental apresenta uma deterioração significativa devido ao aumento do tráfego de veículos principalmente os de grande porte movidos a diesel, formando complexas misturas de poluentes do ar incluindo substâncias carcinogênicas e mutagênicas (Pereira et al., 2007). Neste estudo foi testado o potencial genotóxico de seis localidades diferentes da cidade utilizando o teste de micronúcleos em *Tradescantia pallida*. As amostras foram coletadas em duas estações do ano (verão e inverno) e foram observados significante diferença na frequência de MN entre as plantas expostas no setor industrial e centro urbano com

as expostas no setor rural (controle), revelando considerável potencial genotóxico (Pereira et al., 2007).

Outro estudo realizado em trabalhadores de gráficas, em contato com tintas de impressão, avaliou o potencial de dano citogenético em exposição crônica através da troca de cromátides irmãs (SCE), aberrações cromossômicas (CA) e frequência de micronúcleos (MN) como biomarcadores em linfócitos periféricos, mostrando resultados positivos significativamente maiores do que no grupo controle (Aksoy et al., 2006).

Svensson et al (1990) relataram um aumento significativo no câncer do aparelho respiratório observado entre trabalhadores em máquinas impressoras de rotogravura (Aksoy et al., 2006) e em máquinas de impressão de alta velocidade, que formam névoas de tintas e se acredita estar relacionada com a indução de câncer de pulmão (Leon et al., 1994).

São relatados também estudos de câncer de rim, bexiga e leucemia entre trabalhadores com máquinas para impressão (IARC, 1996).

Considerando que, a nosso conhecimento, não há dados publicados sobre alterações citogenéticas de trabalhadores em fábrica de tintas na indústria Brasileira do setor, o objetivo deste estudo foi avaliar o risco genotóxico destes trabalhadores usando o ensaio cometa no sangue periférico e em células da mucosa oral e o teste do micronúcleo em células da mucosa oral.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar os possíveis riscos em nível de DNA de trabalhadores de uma fábrica de tintas, visando possibilitar a prevenção e monitoramento de possíveis efeitos danosos dos produtos usados na fabricação das tintas nos trabalhadores expostos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1 - Analisar danos em DNA de indivíduos expostos e não expostos (controles) aos produtos químicos do setor de produção da fábrica (tolueno, xileno e acetato de etila), através do teste de micronúcleo em mucosa bucal e ensaio cometa em sangue periférico.
- 2 - Comparar os testes de genotoxicidade com as avaliações ocupacionais realizadas pela empresa, como metabólitos na urina (biomarcadores de exposição).
- 3 - Levantar dados através de questionários sobre doenças mais comuns, hábitos alimentares, idade, fumantes, ingestão de bebidas alcoólicas e tempo de exposição dos indivíduos expostos aos produtos químicos que constituem as tintas, verificando se existe correlação com maior incidência de danos em DNA.

3. RESULTADOS: ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA OCCUPATIONAL
MEDICINE AND ENVIRONMENTAL

Occupational Risk Assessment of Paint Industry Workers

Vanessa Moraes de Andrade^{1*}, Gracilene Pagani Dagostim¹, Arielle da Silva Mota¹,
Priscila Tavares¹, Hugo Martins de Oliveira¹, Luiz Alan Zukoski Correa da Rosa¹,
Vanina Dahlstrom Heuser².

Occupational Risk Assessment of Paint Industry Workers

Vanessa Moraes de Andrade^{1*}, Gracilene Pagani Dagostim¹, Arielle da Silva Mota¹, Priscila Tavares¹, Hugo Martins de Oliveira¹, Luiz Alan Zukoski Correa da Rosa¹, Vanina Dahlstrom Heuser².

¹Laboratório de Imunologia e Mutagênese, Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), 88806-000 Criciúma, SC, Brazil

²Institute of Environmental Medicine, Division of Biochemical Toxicology, Karolinska Institute (KI), Stockholm, Sweden

*Corresponding author:

Prof. Vanessa Moraes de Andrade

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC)

88806-000 Criciúma - SC - Brazil

Phone: +55 48 3431 2759

Fax: +55 48 3443 4817

E-mail: vmoraesdeandrade@yahoo.com.br

Key-words: Comet Assay; Micronucleus Test; Paint-industry workers; Oral mucosa cells.

Abstract

Objectives: The aim of the present study was to evaluate genome damage induced in peripheral blood lymphocytes and oral mucosa cells of paint-industry workers.

Methods: The alkaline Comet assay in blood lymphocytes and mucosa oral cells and the Micronucleus test in mucosa oral cells were employed for genotoxicity evaluations.

Results: For the micronucleus test in buccal exfoliated cells, no significant difference was detected between the control and paint industry workers. The Comet assay in epithelia buccal cells showed that the Damage Index (DI) and Damage Frequency (DF) observed in the exposed group were significantly higher relative to the control group ($P \leq 0.05$). In the same way, the Comet assay data in peripheral blood leukocytes showed that both analysis parameters of this assay (DI and DF) were significantly greater than that for the control group ($P \leq 0.05$).

Conclusions: Chronic occupational exposure to paints may lead to a slightly increased risk of genetic damage among paint industry workers

Key-words: Alkaline Comet Assay; Micronucleus Test; Paint-industry workers; Oral mucosa cells.

Introduction

According to recent studies, occupational exposure to paint may cause an increased risk of several kind of cancer, including lung, bladder and pancreas cancer [1], and lymphatic and hematopoietic tumors.[1,2] These findings are consistent with the 1989 report issued by the International Agency for Research on Cancer that classified painting as an occupationally related cause of cancer and provide further evidence that the risk of certain cancers is increased by exposures in the paint manufacturing process. However, occupational exposure in paint manufacture is not classifiable as to its carcinogenicity.[3]

Thousands of chemical compounds are used in paint products as pigments, extenders, binders, additives and solvents (toluene, xylene, ketones, alcohols, esters and glycol ethers). Workers in paint manufacture are potentially exposed to the chemicals that are found in paint products, although the patterns and levels of exposure to individual agents may differ from those of painters.

The little information available regarding genotoxic effects associated exposure to paints describes positive and negative results. Higher values of chromosomal aberrations (CAs), sister chromatid exchange (SCE), micronuclei (MN) (in lymphocytes and in oral mucosa cells) and DNA damage detected by Comet assay in leukocytes are reported for workers exposed to automobile paints and painters in general.[4-8]. In addition, Diaz et al. [9] describes an increase of MN in peripheral lymphocytes and in oral mucosa cells of paint industry workers in Cuba. More recently, *in vivo* genotoxic studies have demonstrated that dust and fumes of lead-based paints cause chromosomal damage that result in significant increase of heritable CAs levels in painters.[10] In contrast, Cardenas-Bustamante et al.[11] had

investigate the degree of exposure to organic solvents and related genotoxic consequences in paint-factory workers by using cytogenetic monitoring (MN and Comet assay) and had found that there were no statistical differences regarding genetic biomarkers between exposed and non-exposed workers

Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes has been accepted as a technique suitable for the biological monitoring of genetic damage in somatic cells since the early 1970s.[12] In the present study we used the MN test in exfoliated mucosa cells and the single cell gel electrophoresis (SCGE) or Comet assay because of their advantages for the screening of DNA damage caused by environmental mutagens.

MN are acentric chromosome fragments or whole chromosomes left behind during mitotic cellular division, and appear in the cytoplasm of interphase cells as small additional nuclei. The MN test is faster and easier than metaphase analysis and it can be used both *in vivo* and *in vitro* in a variety of cells. This assay has also been shown to be a reliable and sensitive biomarker for human biomonitoring.[13] The frequency of MN in human exfoliated cells is considered a useful biomarker of genotoxic effects in populations exposed to genotoxicants, through direct contact with ingested or inhaled compounds.[14]

Briefly, in the Comet assay, that is a simple and sensitive method for studying DNA damage and repair, cells are embedded in agarose on a microscope slide, lysed with detergent and high salt to form the nucleoids containing supercoiled loops of DNA linked to the nuclear matrix. Then, they are subjected to electrophoresis under alkaline. In cells with increased DNA damage the results are structures resembling Comets, because the DNA that have migrates from the nucleiod, observed by microscopy. The intensity of the Comet tail relative to the read reflects

the number of DNA breaks. The likely basis for this is that loops containing a break lose their supercoiling and become free to extend toward the anode.[15] Similarly to other genotoxicity tests, the Comet assay is not predictive of individual cancer risk but represents a useful tool to evaluate early and still repairable genotoxic effects due to occupational or environmental exposure.[16]

Considering that, to our knowledge, there is no published cytogenetic data concern paint-industry workers in Brazil, the objective of this study was to evaluate the genotoxic risk of these workers using the Comet assay in peripheral blood leukocytes and oral mucosa cells and the MN test in oral mucosa cells.

Material and Methods

Study population and sample collected

This study was approved by Brazilian National Ethical Committee on Research (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, Protocols 061/2008) and informed written consent was obtained from each individual prior to the start of the study.

The study involved 58 male paint-industry workers who were employed in the sectors where they were occupationally exposed to solutions containing organic mixtures. The control group consisted of 17 healthy males with no occupational exposure that worked at administrative section of the industry.

All the individuals examine in the study were required to answer a Portuguese version of a questionnaire from the International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens [17] and participate in a face-to-face

questionnaire which included standard demographic data (age, gender, etc.) as well as questions relating to medical issues (exposure to X-rays, vaccinations, medications, etc.) etc.), life style (smoking, coffee, alcohol, diet, etc.) and their occupation (number of hours worked per day, time exposed to organic solvents, use of protective measures, etc.). Individuals were selected for the two groups (control and paint exposed) in such a manner so as to ensure that except for occupational exposure to organic solvents, there were no marked differences between the members of the groups. Individuals who smoked more than five cigarettes per day for at least one year were considered smokers. The characteristics of the two groups are presented in [Table 1](#).

Blood and urine samples were obtained from individuals in the two groups on the same day at the end of a normal shift during the workers periodical medical examinations by the nurses from a laboratory (BioLabor, Criciúma, Santa Catarina, Brazil). All blood samples were collected using venipuncture and heparinized vacutainers and processed as quickly as possible to avoid the damage associated with storage, the blood cell samples being transported to the university laboratory at or below 8°C and processed within 5 h of collection.

Hippuric acid analysis

As a biomarker of toluene exposure, 50mL of urine samples were collected in the end of the working day and analyzed for hippuric acid (HA) using high performance liquid chromatography (HPLC) with UV-VIS detector at a commercial laboratory (Alvaro Laboratory, Cascavel-PR, Brazil).

Analysis of Hematological parameters

The following hematological markers were measured: erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, platelets, white blood cell count (WBC), lymphocytes and neutrophils. All blood tests were analyzed in a laboratory (BioLabor, Criciúma, Santa Catarina, Brazil) according to standard hematological methods.

Genotoxicity tests

Comet assay in peripheral blood leukocytes

The alkaline Comet assay was performed as described by Singh et al [18] with the modifications suggested by Tice et al. [19] Samples of 5 μ L of whole peripheral blood were embedded in 95 μ L of 0.75% low-melting point agarose and added to a microscope slide (two slides per donor) precoated with normal agarose (1,5% buffer solution). when the agarose had solidified the slides they were placed in lysis buffer (2.5M NaCl, 100mMEDTA and 10mM Tris; pH 10.0–10.5) containing freshly added 1% (v/v) Triton X-100 and 10% (v/v) dimethylsulfoxide (DMSO) for a minimum of 1 h and a maximum of 2 weeks. After treatment with lysis buffer, to allow DNA unwinding, slides were incubated in a freshly made alkaline electrophoresis buffer (0.3M NaOH and 1mM EDTA; pH > 13) for 20 min in a horizontal electrophoresis tank and the DNA was electrophoresed for 20 min at 25V (0.90 V/cm) and 300mA. Every step was carried out under indirect yellow light. After electrophoresis, slides were washed three times in a neutralization buffer (0.4M Tris; pH 7.5) for 5 min, rinsed three times in distilled water, and left to dry overnight at room temperature. Slides were stained with silver nitrate as describe previously by Villela et al [20]: the slides were fixed for 10 min in trichloroacetic acid 15% w/v, zinc sulfate 5% w/v, glycerol 5% v/v, rinsed three times in distilled water, and dried for 2 h at 37 °C. The dry slides were re-hydrated for 5 min in distilled water, and then stained (sodium

carbonate 5% w/v, ammonium nitrate 0.1% w/v, silver nitrate 0.1% w/v, tungstosilicic acid 0.25%, formaldehyde 0.15% w/v, freshly prepared in the dark), and constantly shaken for 35 min. The stained slides were rinsed twice with distilled water, and submerged in the stop solution (acetic acid 1%), rinsed again, and immediately coded for analysis with an optic microscope. Images of 100 randomly selected cells were analyzed per individual. Cells were scored visually into five classes, according to tail size and shape (from undamaged - 0, to maximally damaged – 4), and a value (Damage Index) was assigned to each Comet according to its class (see Villela et al [20]). Damage index thus ranged from 0 (completely undamaged: 100 cells×0) to 400 (with maximum damage: 100 cells×4).[15] The Damage frequency (%) was calculated based on the percentage of damaged cells (0– 100%). International guidelines and recommendations for the Comet assay consider that visual scoring of comets is a well-validated evaluation method. It has a high correlation with computer-based image analysis.[15] Negative controls were processed together with workers samples and analyzed by one investigator.

Comet assay in epithelial buccal cells

Buccal mucosa cells were obtained by swabbing the left inner cheek with a cervical brush. The cells were washed with phosphate buffer solution and centrifuged at 800 rpm for 10 min then, 20 µL of the pellet was resuspended in 80µL of 0.75% low-melting point agarose. The Comet assay was then performed as described above.

MN test in epithelial buccal cells

Exfoliated buccal mucosa cells were collected by swabbing the right inner cheek of the individuals with a moistened wooden tongue depressor and it was

smearred over clean slides containing two drops of physiological solution. Cells were fixed in a methanol–acetic acid (3:1) solution for 10 min, dried at 50° chamber for 5 min and stained with Giemsa 5% (phosphate buffer solution pH 5.8). Then the slides were washed in distilled water and stained with Fast green for 1 min, washed again and stained with total Giemsa for 1 min. After this, they were washed in distilled water again and dried at room temperature.

The criteria used for MN analysis were those of Tolbert et al [21] and Titenko–Holland et al [22] i.e. for a structure to be considered as a micronucleus, it must be: (a) less than one-third of the diameter of the main nucleus; (b) be in the same plane of focus as the main nucleus e; (c) have the same color, texture and refraction as the main nucleus; (d) have a smooth oval or round shape; and (e) be clearly separated from the main nucleus. Only cells that were not smeared, clumped or overlapped and those who contained intact nuclei were included in the analysis. According to Tolbert et al [21] and Gómez–Arroyo et al [23], exfoliated buccal cells undergo degenerative processes which can produce anomalies that are difficult to distinguish from MN (binucleates, pycnosis, karyorrhexis and karyolysis). In our study, these were excluded from the micronucleus analysis and all the slides were coded to blind analysis. The MN frequency was estimated based on the number of normal exfoliated buccal cells counted using bright-field Zeiss microscope at a magnification of 1000X. For each volunteer, 2000 buccal cells (i.e. 1000 from each of the duplicate slides) were scored.

Statistical analysis

The normality of variables was evaluated by the Kolmogorov–Smirnov test; χ^2 and *t*-tests were used to compare the demographic characteristics of study

populations. The statistical analysis of differences in HA, MN test and DNA damage measured by Comet assay were carried out using the non-parametric Mann–Whitney *U*-test. Correlations between different variables were determined by Spearman rank correlation test as appropriate. The critical level for rejection of the null hypothesis was considered to be a *P* value of 5%, two-tailed. All analyses were performed using GraphPad Prism version 4.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.

Results

The main characteristics of the two groups studied are presented in Table 1. No significant differences were observed between the mean age of subjects in the different groups (Student *t*-test). Regarding smoking habits, in the exposed group just three subjects smoking an average of 10.33 ± 4.04 cigarettes per day and non subject had the smoking habit in the control group. Duration of exposure in the exposed group was 3.68 ± 3.29 years, ranged from 0.5 to 12 years. Analysis of questionnaires revealed that all paint-industry workers used silicone gloves to prevent skin contact with organic solvents, glasses and breathing masks. We also observed that all the factories had ventilation in the work areas.

Table 1. Demographic characteristics of the groups of study

| | Control group | Exposed group |
|---|-------------------|------------------|
| Number of subjects | 17 | 58 |
| Age (Mean \pm SD) | 28.24 ± 10.99 | 29.03 ± 9.98 |
| Smokers/non-smokers | 0/17 | 3/55 |
| Gigarettes/day | 0 | 10.33 ± 4.04 |
| Time of exposure (Mean \pm SD, years) | - | 3.68 ± 3.29 |

In relation to hematological parameters, no significant differences were found between the two groups, and both presented normal hematological values similar to reference values observed in the literature for several other Brazilian populations as described by Karazawa and Jamra [24], so the data were not showed.

The comparison of the mean values (g/g creatinine) of urine HA level of the control and exposed group is shown in Fig. 1. A significant increase in HA levels was observed in the exposed group relative to the controls ($P \leq 0.05$, Mann–Whitney *U*-test).

Table 2 shows the data obtaining using the three cytogenetic assays for control and exposed groups that were analyzed using the Mann-Whitney *U*-test. No significant differences were observed between smokers and non-smokers at the exposed group for all cytogenetic analysis. Also, no significant differences were observed in relation to exposure time for all assays. For the micronucleus test in buccal exfoliated cells, no significant difference was detected between the control and paint industry workers. The Comet assay in epithelia buccal cells showed that the Damage Index (DI) and Damage Frequency (DF) observed in the exposed group were significantly higher relative to the control group ($P \leq 0.05$). In the same way, the Comet assay data in peripheral blood leukocytes showed that both analysis parameters of this assay (DI and DF) were significantly greater than that for the control group ($P \leq 0.05$).

Table 2. Mean values (mean \pm SD) obtained by MN test and Comet assay

| | MN in 2000 epithelial buccal cells | | Comet assay in 100 epithelial buccal cells | | Comet assay in 100 leukocytes | |
|-------------------------------------|------------------------------------|----|--|------------------|-------------------------------|--------------------|
| | Mean \pm SD | SD | Damage index | Damage frequency | Damage index | Damage frequency |
| Control group (n=17) | 3.90 \pm 4.60 | | 2.71 \pm 2.27 | 2.64 \pm 2.13 | 18.80 \pm 18.30 | 13.60 \pm 12.70 |
| Exposed group (n=58) | 6.60 \pm 8.10 | | 6.90 \pm 6.11* | 6.33 \pm 5.31* | 33.60 \pm 30.20* | 22.30 \pm 17.30* |
| Non-smokers (n=55) | 7.62 \pm 10.81 | | 7.15 \pm 6.17* | 6.55 \pm 5.35* | 34.00 \pm 30.59* | 22.47 \pm 17.44* |
| Smokers (n=3) | 6.67 \pm 8.33 | | 2.33 \pm 2.08 | 2.33 \pm 2.08 | 26.00 \pm 23.39 | 19.33 \pm 16.17 |
| \leq 3.7 years of exposure (n=36) | 7.61 \pm 8.30 | | 5.86 \pm 6.11* | 7.03 \pm 5.40 | 34.81 \pm 28.39** | 23.53 \pm 16.86* |
| $>$ 3.7 years of exposure (n=22) | 5.10 \pm 6.30 | | 6.31 \pm 6.11* | 5.18 \pm 5.08 | 31.59 \pm 33.43* | 20.32 \pm 18.12 |

*Data significant relative to control group at $P \leq 0.05$, and ** $P \leq 0.01$ (Mann-Whitney U -test, two-tail).

Discussion

Many approaches and techniques have been developed for monitoring human populations that have been exposed to environmental mutagens. The traditional approach has been to use the readily available blood cells, e.g., lymphocytes and red blood cells, to document biomarker of effects.[14] Although long-term diseases are not expected from the affected blood cells, it is generally accepted that the blood cells can be used as sentinel cells types to provide early warning signals for adverse health outcome. It is also of value to determine whether the biomarker effects observed in blood cells are consistent with those in available target cells. In this paper, we provided a study using two types of cells and two genotoxicity assays for evaluate the occupational exposure of paint-industry workers.

Paint industry workers are exposed to complex mixtures of organic solvents, heavy metals such as lead, zinc, chromium, cadmium, and many other compounds with potential mutagenic properties such as phthalic acid and chlorophenols.[3] Because the main solvent present in the mixtures of organic solvents used in the paint production process is toluene, we analyze the HA concentration in urine of the paint industry workers. Our data indicate a higher mean concentration of this toluene metabolite appearing in the urine of these workers in relation to control group, and these levels confirmed exposure to toluene among paint-industry workers (Figure 1). However, the HA values observed for all volunteers can be considered low according to NR-7 [25] (up to 1.5 g/g creatinine). Nevertheless,

similar result was found by Pelclova et al [26] in printers exposed to toluene in Poland. The HA and urine in this group of printers were significantly higher than in controls; however, the levels nonetheless remained lower than the Czech limit for occupational settings (i.e., 2,5g/L of urine). In addition, De Rosa et al [27] carried out a monitoring of subjects working in a printing industry, who were exposed to toluene, using urine samples collected before and after the work shift for the determination of HA. They found many correlations between levels of HA in urine and the environmental samples of toluene collected at the industry and concluded that HA is a valid test for evaluating even low exposures to toluene.

Some of the biological effects of exposure to organic solvents are hematological changes.[28] These effects may result in a decreased production of red blood cells, white blood cells, and platelets.[29] However, in contrast to the results of Beving et al.[29] from painters in Sweden, the values obtained in our study for hematological parameters showed no significant differences between control and exposed group.

The influences of age, sex and smoking on DNA damage are well-known problems in industrial monitoring.[10,30] However, in this study these factors could be excluded; in both groups the mean age was similar, all persons were men and just 3 people of workers had smoked habits but in this case the values obtained for cytogenetic tests were not different from control subjects. Similarly, Silva e Santos-Mello [6] concluded that smoking habits do not represent a significant factor in terms of production of the various types of chromosome aberrations founded in their occupational monitoring with car painters.

The results obtained in this study show that there is no exposure related induction of MN in buccal epithelia cells of workers exposed to solvents in paint industry. Although only a few studies have been conducted with paint workers, data reported using these cells indicate positive results.[5,7,9] The use of the MN test in exfoliated cells has substantially increased as it is considered a useful biomarker of genotoxic effects in population exposed to genotoxicants through direct contact with ingested or inhaled compounds. It must be recalled that epithelial cells are highly proliferative and are the origin of more than 90% of cancers, for which their use in biomonitoring can be really useful.[14]

On the other hand, the Comet assay values for the paint industry workers were significantly higher than the values of control group both in the peripheral blood and buccal exfoliated cells. Positive results in the Comet assay do not always correspond to positive results in the MN test, especially when the exposure to genotoxic agents is small. The Comet assay usually detects more defects than the MN test.[31] The positives in the Comet assay and MN tests are due to different mechanisms; the MN test detects injuries that survive at least one mitotic cycle, while the Comet assay identifies reparable injuries or alkali-label sites.[31,32] Consequently, Goethem et al [31] suggest the use of both MN test and Comet assay.

The possibility of cytogenetic damage in various occupations exposed to organic solvents has been discussed in several papers.[5-7,9-11,32-35] The increasing use and diversity of solvents raises concern about possible risks in occupational exposure. Several earlier reports suggest harmful effects in subjects

occupationally exposed to paint and their components. Madhavi et al [10] reported that occupational exposure to lead-based paints has been associated with an increase in the frequency of CA in the workers when compared to the controls. A monitoring study was designed for Pinto et al [5] to determine occupational exposure risk in outdoor painters. Painters showed CA and SCE in lymphocytes and MN in oral epithelia cells greater than in the control group. Diaz et al [9] had analysis lymphocytes and oral mucosa cell MN in twenty-one Cuban paint industry workers. Both MN assays show the same results, i.e., a statistically significant difference between the workers and the control group. Another study reporting CA in lymphocytes from car painters in Brazil showed that there was a significantly higher frequency of aneuploidies and chromosome deletions in the peripheral lymphocytes of car painters than in control subjects.[6]

The MN test and the Comet assay were applied to exfoliated buccal cells in order to evaluate the genotoxic risk associated with occupational exposure of 10 car painters by Martino-Roth et al. [7]. Highly significant effects of occupational exposure were found in this study with both the MN test and the Comet assay. On the other hand, Cardenas-Bustamante et al.[11] had investigated the degree of exposure to organic solvents and related genotoxic consequences in paint-factory workers determining MN frequency in lymphocytes and DNA damage by Comet assay. They found that there were no statistical differences regarding genetic biomarkers between exposed and non-exposed workers.

A major problem in interpreting biomonitoring studies is estimating the degree of exposure. Possible abuse or misuse could lead to significant levels of

exposure.[36] Until now, many biomonitoring studies have been performed in people from different regions and under a variety of exposure conditions, using several different biomarkers. In this context, is not surprising that the results obtained by different authors have also shown variability. Also, since workers are frequently exposed to complex mixtures of organic solvents present in paints, it is difficult to attribute the genotoxic damage to any particular chemical or compound.

Thus, the DNA damaged observed in our study and in all these listed above should not be attributed only to one compound, but to the cumulative effect of many chemical compounds that are used in paint products. Also, even the water-based paints containing polymerized acrylates and vinyls which are presumed innocuous except for residual monomers mainly: ethyl acrylate, methyl acrylate and vinyl acetate that would be metabolized and excreted.[3,37] Interestingly, they have shown clastogenic activities in vitro and in vivo, and ethyl acrylate is considered an animal carcinogen.[37]

In the present study, even that paint workers had said they using adequate personal protection equipment, an increase in HA concentration in urine was observed together with an increase in Comet assay values both for leukocytes as buccal cells. Organic solvents levels in the samples were apparently low, which is consistent with the absence of mutagenicity and presence of only genotoxicity in cells. It can be concluded from this study that occupational exposure to paints may lead to a slightly increased risk of genetic damage among paint industry workers. Due to these considerations and the complex multi composition of paints and solvents, hygienic measures were suggested. A better understanding of variables

related to cytogenetic damage would greatly reduce the uncertainty in the carcinogenic risk assessment among paint industry workers.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to all the individuals who volunteered to participate in this study. We also thank the chair of the paint industry and especially to Marcelo Comim for his valuable help during the sampling. This research was supported by grants from Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

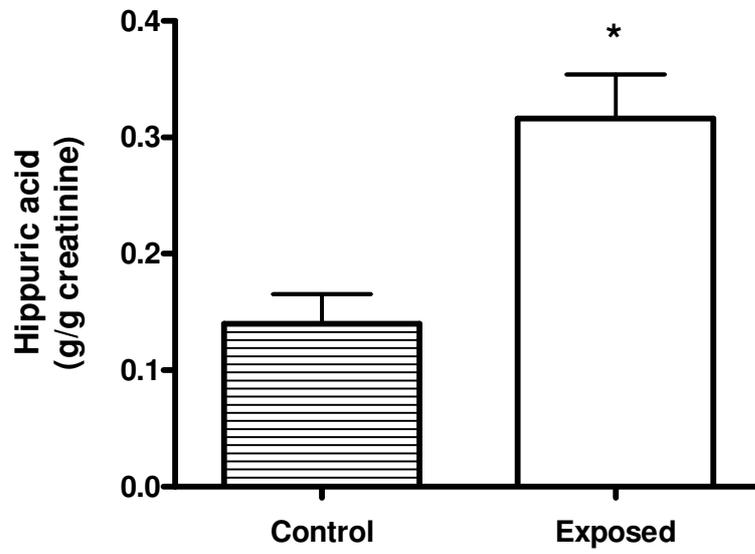


Figure 1. Hippuric acid (HA) concentration (mean \pm SEM) in urine of control and exposed group. *Difference significant relative to control group at $P \leq 0.05$ (Mann-Whitney U -test, two-tail).

References

1. Brown LM, Moradi T, Gridley G, *et al.* Exposures in the painting trades and paint manufacturing industry and risk of cancer among men and women in Sweden. *J Occup Environ Med* 2002;**44**:258-64.
2. Lundberg I, Milatou-Smith R. Mortality and cancer incidence among Swedish paint industry workers with long-term exposure to organic solvents. *Scand J Work Environ Health* 1998;**24**:270-275.
3. IARC (International Agency for Research on Cancer). Some Organic Solvents, Resin Monomers and Related Compounds, Pigments and Occupational Exposures in Paint Manufacture and Painting. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. *IARC* 1989;**47**.
4. Piña-Calva A, Madrigal-Bujaidar E, Fuentes MV, *et al.* Increased frequency of chromosomal aberrations in railroad car painters. *Arch Environ Health* 1991;**46**:335-339.
5. Pinto D, Ceballo JM, Garcia G, *et al.* Increased cytogenetic damage in outdoor painters. *Mutat Res* 2000;**467**:105-111.
6. Silva JMGC, Santos-Mello R. Chromosomal aberrations in lymphocytes from car painters. *Mutat Res* 1996;**368**:21-25.
7. Martino-Roth MG, Viégas J, Roth DM. Occupational genotoxicity risk evaluation through the comet assay and the micronucleus test. *Genet Mol Res* 2003;**2**:410-417.

8. Testa A, Festa F, Ranaldi R, *et al.* A multi-biomarker analysis of DNA damage in automobile painters. *Environ Mol Mutagen* 2005;**46**:182-8.
9. Diaz S, Fonseca G, Fernandez I. Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas* 1990;**113**:77-80.
10. Madhavi D, Devi KR, Sowjanya BL. Increased Frequency of Chromosomal Aberrations in Industrial Painters Exposed to Lead-Based Paints. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2008;**27**:53-59.
11. Cárdenas-Bustamante O, Varona-Urbe M, Patiño-Florez, R. Bogotá paint-industry workers' exposure to organic solvents and genotoxic effects. *Rev Salud Publica* 2007;**9**:275-288.
12. Sram RJ, Rössner P, Smerhovský Z. Cytogenetic analysis and occupational health in the Czech Republic. *Mutat Res* 2004;**566**:21-48.
13. Kirsch-Volders M, Sofuni T, Aardema M, *et al.* Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutat Res* 2003;**540**:153-163.
14. Salama SA, Serrana M, Au WW. Biomonitoring using accessible human cells for exposure and health risk assessment. *Mutat Res* 1999;**436**:99-112.
15. Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, *et al.* The comet assay: topical issues. *Mutagenesis* 2008;**23**:43-151.
16. Møller P, Knudsen LE, Loft S, *et al.* The Comet Assay as a Rapid Test in Biomonitoring Occupational Exposure to DNA-damaging Agents and Effect of Confounding Factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;**9**:1005-1015.
17. Carrano AV, Natarajan AT. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques, International Commission for Protection against

Environmental Mutagens and Carcinogens (ICPEMC publication 14). *Mutat Res* 1988;**204**:379–406.

18. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, *et al.* A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988;**175**:184–191.

19. Tice RR, Agurell E, Anderson D, *et al.* Single-cell gel/Comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen* 2000;**35**:206–221.

20. Villela IV, Oliveira IM, Silva J, *et al.* DNA damage and repair in haemolymph cells of golden mussel (*Limnoperna fortunei*) exposed to environmental contaminants. *Mutat Res* 2006;**605**:78-86.

21. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: method development. *Mutat Res* 1992;**271**:69–77.

22. Titenko-Holland N, Jacob RA, Shang N, *et al.* Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate. *Mutat Res* 1998;**417**:101-114.

23. Gomez-Arroyo S, Diaz-Sanchez Y, Meneses-Perez MA, *et al.* Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutat Res* 2000;**466**:117-124.

24. Karazawa EHI, Jamra M. Parâmetros Hematológicos Normais. *Rev Saude Publica* 1989;**23**:58-66.

25. Norma Regulamentadora N°7 (NR-7). Segurança e Medicina do Trabalho – NR-7 – Programa de Controle Médico de Saude Ocupacional, Portaria GM/SSSTb n. 24 (DOU December 30, 1994).

26. Pelclova D, Cerna M, Patorkova A, *et al.* Study of the genotoxicity of toluene. *Arch Environ Health* 2000;**55**:268–273.
27. De Rosa E, Brugnone F, Bartolucci GB, *et al.* The validity of urinary metabolites as indicators of low exposures to toluene. *Int Arch Occup Environ Health* 1985;**56**:135-145
28. Descatha A, Arash J, Françoise C, *et al.* Occupational Exposures and Haematological Malignancies: Overview on Human Recent Data. *Cancer Causes Control* 2005;**16**:939-953.
29. Beving H, Malmgren R, Petren S, *et al.* Haematological Changes in House Painters using Epoxy Paints. *Occup Med* 1991;**41**:102-106.
30. Faust F, Kassie F, Knasmuller S, *et al.* The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. *Mutat Res* 2004;**566**:209-229.
31. Goethem FV, Lison D, Kirsch-Volders M. Comparative evaluation of the *in vitro* micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis assay for the detection of DNA damaging agents: genotoxic effects of cobalt powder, tungsten carbide and cobalt-tungsten carbide. *Mutat Res* 1997;**392**:31-43.
32. Vrzoc M, Petras ML. Comparison of alkaline single cell gel (Comet) and peripheral blood micronucleus assays in detecting DNA damage caused by direct and indirect acting mutagens. *Mutat Res* 1997;**381**:31-40.
33. Heuser VD, Andrade VM, Silva J,*et al.* Comparison of genetic damage in brazilian footwear-workers exposed to solvent-based or water-based adhesive. *Mutat Res* 2005;**583**:85-94.

34. Çok I, Sarda S, Kadioglu E, *et al.* Assessment of DNA damage in glue sniffers by use of the alkaline comet assay. *Mutat Res* 2004;**557**:131-136.
35. Pitarque M, Vaglenov A, Nosko M, *et al.* Evaluation of DNA damage by the Comet assay in shoe workers exposed to toluene and other organic solvents. *Mutat Res* 1999;**441**:115-127.
36. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res* 2003;**543**:251-272.
37. IARC (International Agency for Research on Cancer). Some Chemicals Used in Plastics and Elastomers. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. *IARC* 1986;**39**.

4. DISCUSSÃO

Um objetivo importante para a genética toxicológica é o de proporcionar informações precisas sobre a exposição e avaliação dos riscos para uma prevenção eficaz dos problemas de saúde. Muitas abordagens e técnicas foram desenvolvidas para o monitoramento de populações humanas expostas ao ambiente mutagênico. A abordagem tradicional tem sido a utilização de células sanguíneas prontamente disponíveis, por exemplo, linfócitos e glóbulos vermelhos, para documentar biomarcador de efeitos (Salama et al., 1999). Embora a longo prazo doenças não são esperadas a partir de células do sangue dos afetados, é geralmente aceito que as células do sangue podem ser usadas como células sentinelas, pois fornecem sinais precoce de alerta para o desfecho adverso para a saúde. É também de valor para determinar se o biomarcador de efeito observado em células do sangue são coerentes com os disponíveis em células-alvo.

Trabalhadores em indústrias de tintas estão expostos a misturas complexas de solventes orgânicos, metais pesados como o chumbo, zinco, cromo, cádmio, além de vários outros compostos com propriedades mutagênicas (IARC, 1998). Como o tolueno é o principal solvente presente nas misturas de solventes orgânicos utilizados no processo de produção das tintas, analisamos a concentração ácido hipúrico na urina desses trabalhadores. Nossos dados indicam uma maior concentração média deste metabólito do tolueno aparecendo na urina desses trabalhadores em relação ao grupo controle ($P \leq 0,05$, Mann-Whitney U-teste), e estes níveis confirmou a exposição ao tolueno entre

trabalhadores da indústria de tintas. Contudo, as taxas de ácido hipúrico observadas em todos os voluntários pode ser considerada baixa, considerando que o normal é até 1,5 g/g de creatinina, conforme a Norma Regulamentadora NR-7 (1994). Ainda assim, resultados similares foram encontrados por Pelclová et al. (2000), em trabalhadores expostos ao tolueno na Polónia. O ácido hipúrico nesse grupo de trabalhadores foi consideravelmente maior do que no grupo controle, no entanto, os índices permaneceram menores do que o limite permitido para exposição ocupacional na República Tcheca (2,5 g/L de urina). Além disso, De Rosa et al (1985) monitorou trabalhadores em uma indústria gráfica, expostos ao tolueno, utilizando amostras de urina coletadas antes e depois do turno de trabalho para a determinação do ácido hipúrico. Os pesquisadores encontraram várias correlações entre os índices de ácido hipúrico na urina e a amostra ambiental de tolueno coletada na indústria e concluíram que o ácido hipúrico é um teste válido inclusive para a avaliação de casos de menor exposição ao tolueno.

As alterações hematológicas exemplificam alguns dos efeitos biológicos causados pela exposição a solventes orgânicos (Descatha et al 2005). Esses efeitos podem resultar no decréscimo da produção de glóbulos vermelhos, leucócitos e plaquetas (Beving et al 1991). Entretanto, diferente dos resultados obtidos por Beving et al acerca de um grupo de pintores na Suécia, os valores obtidos para os parâmetros hematológicos em nosso estudo não acusaram variação relevante entre o grupo controle e o grupo exposto.

As influências da idade, sexo e tabagismo nos danos ao DNA são bem conhecidos em se tratando de monitoramento industrial (Faust et al 2004; Madhavi

et al 2008). Entretanto, no presente estudo estes fatores puderam ser excluídos, em ambos os grupos a média de idade foi semelhante, todas as pessoas eram homens e apenas 3 trabalhadores tinham hábito de fumar, mas nesse caso os valores obtidos pelos testes citogenéticos não diferiram daqueles do grupo controle. Do mesmo modo, Silva e Santos-Mello (1996) concluíram que o tabagismo não representa um fator significativo em relação a produção dos vários tipos de aberrações cromossômicas encontradas no monitoramento ocupacional de pintores de carros.

Os resultados obtidos neste estudo mostram que não há indução relacionada à exposição de MN em células epiteliais bucais de trabalhadores expostos a solventes na indústria de tintas. Embora apenas alguns estudos tenham sido conduzidos com trabalhadores que manipulam tintas, os índices indicam resultados positivos no uso dessas células (Diaz et al 1990, Pinto et al 2000; Martino-Roth et al 2003). O uso do teste MN em células esfoliadas aumentou consideravelmente, uma vez que é considerado como um biomarcador de efeitos genotóxicos eficaz em populações expostas a produtos genotóxicos através do contato direto com compostos inalados ou ingeridos. É importante lembrar que as células epiteliais são altamente proliferativas e originam mais de 90% dos cânceres, razão pela qual o seu uso em biomonitoramento faz-se fundamental (Salama et al, 1999).

Por outro lado, os valores do ensaio cometa para trabalhadores da indústria de tintas foram significativamente maiores do que os valores encontrados no grupo controle, tanto em células sanguíneas periféricas quanto em células bucais

esfoliadas. Os resultados positivos no teste do cometa nem sempre correspondem aos resultados positivos no teste MN, especialmente quando a exposição aos agentes genotóxicos é pequena. O ensaio cometa normalmente detecta mais defeitos do que o teste MN (Goethem et al., 1997). Os valores positivos no ensaio cometa e teste do MN são devido a diferentes mecanismos, o teste do MN detecta lesões que sobrevivem, pelo menos, um ciclo mitótico, enquanto que no ensaio Cometa identifica lesões reparáveis ou sítios alcali-lábeis (Goethem et al 1997; Vrzoc e Petras 1997). Consequentemente, Goethem et al (1997) sugerem a utilização de ambos os testes MN e Cometa.

A possibilidade de danos citogenéticos em diferentes ocupações expostas a solventes orgânicos tem sido discutida em vários trabalhos (Pelclová et al 2000; Maffei et al 2005, Pinto et al 2000; Çok et al 2004, Madhavi et al 2008, Martino-Roth et al 2003; Cárdenas-Bustamante et al 2007; Diaz et al 1990, Pitarque et al 1999; Heuser et al 2005; Silva e Santos-Mello 1996). O uso crescente de diversos solventes suscita preocupações sobre eventuais riscos de exposição ocupacional. Vários relatórios anteriores sugerem efeitos nocivos em indivíduos expostos ocupacionalmente a tintas e aos seus componentes. Madhavi et al (2008) relataram que a exposição ocupacional a tintas à base de chumbo tem sido associado com um aumento na frequência de aberrações cromossômicas em trabalhadores quando comparados aos controles. Um estudo de monitoramento foi realizado por Pinto et al (2000) para determinar risco de exposição ocupacional em pintores de paredes externas. Os pintores apresentaram aberrações cromossômicas e troca de cromátides irmãs em linfócitos e micronúcleos em

células epiteliais de mucosa oral maiores do que no grupo controle. Diaz et al (1990) analisaram micronúcleos em linfócitos e células da mucosa oral em vinte e um trabalhadores cubanos de indústria de tintas. Ambos os ensaios de micronúcleos mostram os mesmos resultados, ou seja, uma diferença estatisticamente significativa entre os trabalhadores e os do grupo controle. Outro estudo relata aberrações cromossômicas em linfócitos de pintores de carros no Brasil, mostrou uma frequência significativamente maior de aneuplóides e deleções cromossômicas nos linfócitos periféricos em pintores de automóveis do que no grupo controle.

O teste do MN e o ensaio cometa foram aplicados por Martino-Roth et al (2003) em células esfoliadas da mucosa oral para avaliar o risco genotóxico associado à exposição ocupacional de 10 pintores de carros. Efeitos altamente significantes em relação à exposição ocupacional foram encontrados nesse estudo, tanto no teste MN quanto no ensaio cometa. Por outro lado, Cárdenas-Bustamante et al (2007) haviam investigado o grau de exposição a solventes orgânicos e conseqüências genotóxicas relacionadas em trabalhadores da indústria de tintas, determinando a frequência de micronúcleos em linfócitos e o dano do DNA no ensaio Cometa. Eles observaram que não havia nenhuma diferença estatística relevante em relação aos biomarcadores genéticos entre os trabalhadores expostos e trabalhadores não expostos.

Um grande problema encontrado ao interpretar os estudos biomonitorizados diz respeito a estimativa do grau de exposição. Abusos possíveis e usos equivocados podem levar a significativos índices de exposição (Bolognesi, 2003).

Até hoje, vários estudos biomonitorados consideraram pessoas de diversas regiões e sob uma variedade de condições de exposição, utilizando diferentes biomarcadores. Nesse contexto, não surpreende a variabilidade dos resultados obtidos por diferentes autores. Da mesma forma, como os trabalhadores são freqüentemente expostos a misturas complexas de solventes orgânicos presentes nas tintas, é difícil atribuir o dano genotóxico a um composto químico em particular (Remor et al., 2008).

Assim, o dano no DNA observado em nosso estudo e nos estudos acima mencionados não deve ser atribuído a apenas um composto, mas sim ao efeito cumulativo dos vários compostos químicos utilizados na produção das tintas. em todos esses listados acima não deve ser atribuída a um só complexo, mas para o efeito cumulativo de vários compostos químicos que são usados na produção das tintas. Da mesma maneira, até mesmo as tintas à base de água contendo água contendo acrilatos e vinis polimerizados que se presume inócuo exceto para monômeros residuais principalmente: etil acrilato, metil acrilato e acetato de vinil que são metabolizados e excretados (IARC, 1986). Curiosamente, eles mostraram atividade clastogênica *in vitro* e *in vivo*, e o etil acrilato é considerado um carcinogênico em animais (IARC, 1989). No entanto, segundo a avaliação feita pela Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC) relativa especificamente para trabalhadores na indústria de tintas, não há evidências suficientes para a carcinogenicidade na exposição ocupacional em fabricação de tintas.

No presente estudo, mesmo os trabalhadores afirmando estarem utilizando equipamentos de proteção individual adequados, o que pode ser uma informação incorreta, um aumento na concentração de ácido hipúrico na urina foi observado, juntamente com um aumento nos valores do ensaio cometa tanto para leucócitos como em células bucais. Solventes orgânicos tiveram níveis aparentemente baixos nas amostras, o que é consistente com a ausência de mutagenicidade e presença de apenas genotoxicidade nas células. É possível concluir a partir deste estudo que a exposição crônica ocupacional a tintas pode conduzir a um leve aumento no risco de dano genético entre trabalhadores na indústria de tintas. Devido a estas considerações e à complexa composição das tintas e solventes, algumas medidas de higiene e segurança do trabalho. O entendimento mais correto das variáveis relacionadas ao dano citogenético reduziria consideravelmente a incerteza na avaliação dos riscos carcinogênicos dos trabalhadores dessa indústria de tintas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AUGUSTO LGS; FREITAS CM. O princípio da precaução no uso de indicadores de riscos químicos ambientais em saúde de trabalhador. **Ciência Saúde Coletiva** 3: 85-95. 1998.
- AKSOY H; YILMAZ S; ÇELİK M; YUZBASIOĞLU D; UNAL F. Genotoxicity study in lymphocytes of printing workers. **Journal of Applied Toxicology** 26: 10-15. 2006.
- BAUCHINGER M; SCHMID R; DRESP J; KOLIN-GERRESHEIM J; HAUF R; SUHR R. Chromosome changes in lymphocytes after occupational exposure to toluene. **Mutation Research** 102: 439-445. 1982.
- BOLOGNESI C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. **Mutation Research** 543: 251-272. 2003.
- BURGAZ S; ERDEM O; ÇAKMAK G; ERDEM N; KARAKAYA A; KARAKAYA AE. Cytogenetic analysis of bucal cell from shoe-workers and pathology and anatomy laboratory workers exposed to n-hexane, toluene, methyl ethyl ketona and formaldehyde. **Biomarkers** 7: 151-161. 2002.
- CÁRDENAS-BUSTAMANTE O; VARONA-URIBE M; PATINO-FLOREZ R. Bogotá paint-industry workers exposure to organic solvents and genotoxic effects. **Revista de Salud Publica** 9: 275-288. 2007.
- CARRANO AV; NATARAJAN AT. Considerations for population monitoring using cytogenetics techniques. ICPEMC publication 14. **Mutation Research** 204: 379- 406. 1988.
- ÇOK I; DAGDELEN E; GOKÇE E. Determination of urinary hippuric acid and o-cresol levels as biological indicators of toluene exposure in shoe-workers and gluesniffers. **Biomarkers** 8: 119-127. 2003.
- ÇOK I; SARDA S; KADIOĞLU E. Assessment of DNA damage in glue sniffers by use of the alkaline comet assay. **Mutation Research** 557: 131-136. 2004.

- COSTA C; DE PASQUALE R; SILVARI V; BARBARO M; CATANIA S. In vitro evaluation of oxidative damage from organic solvent vapours on human skin. **Toxicology in Vitro** 20: 324-331. 2006.
- DE ROSA E; BRUGNONE F; BARTOLUCCI GB. The validity of urinary metabolites as indicators of low exposures to toluene. **Int Archives Occupational Environment Health** 56: 135-145. 1985.
- DESCATHA A; ARASH J; FRANÇOISE C; Occupational Exposures and Haematological Malignancies: Overview on Human Recent Data. **Cancer Causes Control** 16: 939-953. 2005
- DIAZ S; FONSECA G; FERNANDEZ I. Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. **Hereditas** 113: 77-80. 1990.
- DUSINSKA M; COLLINS AR. The comet assay in human biomonitoring: gene-environment interactions. **Mutagenesis** 23: 191-205. 2008.
- FARBAIRN DW; OLIVE PL; O'NEIL KL. The Comet assay: a comprehensive review. **Mutation Research** 339 37-59. 1995.
- FAUST F; KASSIE F; KNASMULLER S; KEVEKORDES S; MERSCH-SUNDERMANN V. Use of primary blood cells for the assessment of exposure to occupational genotoxicants in human biomonitoring studies. **Toxicology** 198: 41- 350. 2004.
- FENECH M. The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. **Mutation Research** 392: 11-18. 1997.
- FENECH M; HOLLAND NT; CHANG WP; ZEIGER E; BONASSI S. The Human Micronucleus Project – An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research** 428: 271-283. 1999.
- FORSTER LMK; TANNHAUSER M; TANNHAUSER LS. Toxicologia do tolueno: aspectos relacionados ao abuso. **Revista de Saúde Pública** 28: 167-172. 1994.
- FREITAS NBBF; ARCURI ASA. Riscos devido à substâncias químicas. **Cadernos de Saúde do Trabalhador**. Junho 2000.

- FRIAS J; SILVA CA. **A saúde do trabalhador no Maranhão**: Uma visão atual e proposta de atuação. (Mestrado) Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 1999. 135 p.
- GOETHEM FV; LISON D; KIRSCH-VOLDERS M. Comparative evaluation of the in vitro micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis assay for the detection of DNA damaging agents: genotoxic effects of cobalt powder, tungsten carbide and cobalt-tungsten carbide. **Mutation Research** 392: 31-43. 1997.
- HAMMER DK; MAYER N; PFEIFFER EH. Sister chromatid exchanges in rotogravure printing plant workers. **Int Archives Occupational Environment Health** 71: 138-142. 1998.
- HAYASHI M; MACGREGOR JT; GATEHOUSE DG; ADLER ID; BLAKEY DH; DERTINGER SD; KRISHNA G; MORITA T; RUSSO A; SUTOU S. In Vivo Rodent Erythrocyte Micronucleus Assay. II Some Aspects of Protocol Design Including Repeated Treatments, Integration With Yotoxicity Testing, and Automated Scoring. **Environment Molecular Mutagen** 35: 234-252. 2000.
- HEDDLE JA. Implications for genetic toxicology of the chromosomal breakage syndromes. **Mutation Research** 247: 221-229. 1991.
- HEDDLE JA; CIMINO MC; HAYASHI M; ROMAGNA F; SHELBY MD; TUCKER JD; VAMPARYS P; MACGREGOR JT. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future. **Environment Molecular Mutagen** 18: 277-291. 1991.
- HEDDLE JA; HITE M; KIRKHART B; MAVOURIN K; MACGREGOR; NEWELL GW; SLAMONE MF. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. environmental protection agency gene-tox program. **Mutation Research** 123: 61-118. 1983.
- HEUSER VD; ANDRADE VM; SILVA J; ERDTMANN B. Comparasion of genetic damage in Brasil Footwear-Workers exposed to solvent-based or water-based adhesive. **Mutation Research** 583: 85-94. 2005.

- IARC (International Agency for Research on Cancer). Some chemicals used in plastics and elastomers. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. **IARC** 39. 1986
- IARC (International Agency for Research on Cancer). Some organic solvents, resin monomers and related compounds, pigments and occupational exposures in paint manufacture and painting. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. **IARC** 47. 1989.
- IARC. OMS. **Overall evaluations of carcinogenicity**. Lion, 1987.
- IARC. Printing processes Occupational exposure (Group 2B) and printing inks (Group 3). **Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.** 65: 33-149. 1996.
- INCA. **Vigilância do câncer ocupacional e ambiental**. Rio de Janeiro, 2005.
- KASSIE F; PARZEFALL W; KNAMULLER S. Single cell electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. **Mutation Research** 463: 13-31. 2000.
- KESHAHA N; ONG T. Occupational exposure to genotoxic agents. **Mutation Research** 473: 175-194. 1999.
- KIM JK; SHIN HS; LEE JH; LEE JJ; LEE JH. Genotoxic effects of volatile organic compounds in a chemical factory as evaluated by the *Tradescantia* micronucleus assay and by chemical analysis. **Mutation Research** 541: 55-61. 2003.
- KIRSCH-VOLDERS M; ELHAJOUJI A; CUNDAN E; VAN HUMELEN P. The in vitro micronucleus teste: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. **Mutation Research** 392: 19-30. 1997.
- KIRSCH-VOLDERS M; SOFUNI T; AARDEMA M; ALBERTINI S; EASTMOND D; FENECH M; ISHIDATE M; KIRCHNER S; LORGE E; MORITA T; NORPPA H; SURRALLES J; VANHAUWAERT A; WAKATA A. Report from the in vitro micronucleus assay working group. **Mutation Research** 540: 153-163. 2003.
- LARINI L. **Toxicologia**. São Paulo. 3ª edição. 1999.

- LEON DA; THOMAS P; HUTCHINGS S. Lung cancer among newspapers printers exposed to ink mist: a study of trade union members of Manchester, England. **Occupacional Environment Medicine** 51: 87-94. 1994.
- LOEB LA; HARRIS CC. Advances in chemical carcinogenesis: A historical review and prospective. *Cancer Research* 68. 2008.
- LOWRY LK. Role of biomarkers of exposure in the assessment of health risks. *Toxicology Letters* 77: 31-38. 1995.
- LUCAS D; FERRARA R; GONZÁLES E; ALBORES A; MANNO M; BERTHOU F. Cytochrome CYP2E1 phenotyping and genotyping in the evaluation of health risks from exposure to polluted environments. **Toxicology Letters** 124: 71-81. 2001.
- MADHAVI D; DEVI KR; SOWJANYA BL. Increased frequency of chromosomal aberrations in industrial painters exposed to lead-based paints. **Journal Environment Pathology Toxicology Oncology** 27: 53-50. 2008
- MAFFEI F; HRELIA P; ANGELINI S; CARBONE F; FORTI GC; BARBIERI A; SANGUINETTI G; MATTIOLI S; VIOLANTE FS. Effects of environmental benzene: Micronucleus frequencies and haematological values in traffic police working in an urban area. **Mutation Research** 583: 1-11. 2005.
- MALUF SW; ERDTMANN B. Follow-up study of the genetic in lymphocytes of pharmacists and nurses handling antineoplastic drugs evaluated by cytokinesis-block micronuclei analysis and single cell gel electrophoresis assay. **Mutation Research** 471: 21-27. 2000.
- MARCON F; ZIJNO A; CREBELLI R; CARERE A; VEIDEBAUM T; PELTONEN K; PARKS R; SCHULER M; EASTMOND D. Chromosome damage and aneuploidy detected by interphase multicolour FISH in benzene-exposed shale oil workers. **Mutation Research** 445: 155-166. 1999.
- MARGOTTA R. **História Ilustrada da Medicina**. São Paulo. Editora Manole, 1998.
- MARTINO-ROTH MG; VIEGAS J; ROTH DM. Occupational genotoxicity risk evaluation through the comet assay and the micronucleus test. **Genetics and Molecular Research** 2: 410-417. 2003.

- MAVOURNIN KH; BLAKEY DH; CIMINO MC; SALAMONE MF; HEDDLE JA. The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency. Gene-Tox Progra. **Mutation Research** 239: 29-80. 1990.
- McKELVEY-MARTIN VJ; GREEN MHL; SCHMEZER P; POOL-ZOBEL BL; DE MEO MP; COLLINS A. The single cell gel electrophoresis assay (Comet assay). **Mutation Research** 288: 47-63. 1993.
- MENDES R. **Patologia do Trabalho**. Rev. Saúde Pública. Rio de Janeiro. Atheneu, 1995.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Doenças relacionadas ao trabalho**, 2001.
- MOLLER P; KNUDSEN LE; LOFT S; WALLIN H. The comet assay as a rapid test in bimonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 9: 1005-1015. 2000.
- NETTO PAD. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): Uma revisão metodológica. **Quimica nova** 23: 765-773. 2000.
- NISE G; HOGSTEDT B; BRATT I; SKERFVING S. Cytogenetic effects in rotogravure workers exposed to toluene (and benzene). **Mutation Research** 261: 217-223. 1991.
- NORA. National Occupational Research Agenda Team. Priorities for development of research in occupational câncer. **Environment Health Perspectives** 111: 1-12. 2003.
- NORMA REGULAMENTADORA Nº 7 (NR-7). **Segurança e Medicina do Trabalho – NR-7**. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional, Portaria GM/SSSTb nº 24 (DOU December 30, 1994).
- PELCLOVÁ D; CERNA M; PATORKOVA A; VRBIKOVA V; PROCHAZKA B; HURYCHOVA D; DLASKOVA Z; HORNYCHOVA M. Study of the genotoxicity of toluene. **Archives Environment Health** 55: 268-273. 2000.
- PELCLOVÁ D; ROSSNER P; PICKOVA J. Chromosome aberrations in rotogravure printing plant workers. **Mutation Research** 245: 299-303. 1990.

- PEREIRA BB; CAMPOS JR EO; AMARAL IMR; FARIA RCB; BONETTI AM; KERR WE. Teste de micronúcleo com tradescantia aplicado ao monitoramento da genotoxicidade do ar de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. **Resumos do 53º Congresso Brasileiro de Genética**. Águas de Lindóia. 2007.
- PINTO D, CEBALLOS JM, GARCIA G, GUSMAN P, DEL RAZO LM, VERA E, GOMEZ H, GARCIA A, GONSEBATT ME. Increased cytogenetic damage in outdoor painters. **Mutation Research** 467: 105-111. 2000.
- PITARQUE M; VAGLENOV A; NOSKO M; HIRVONEN A; NORPPA H; CREUS A; MARCOS R. Evaluation of DNA damage by bcomet assay in shoe workers exposed to toluene and other organic solvents. **Mutation Research** 441: 115-127. 1999.
- PITARQUE M; VAGLENOV M; NOSKO M; HIRVONEN 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. **Mutation Research** 441: 115-127. 1999.
- POPP W; VAHRENHOLZ C; YAMAN S; MULLER C; MULLER G; SCHMIEDING K; NORPO K; FAHNERT R. Investigations of the frequency of DNA strand breakage and cross-linking and of SCEs frequency in the lymphocytes of female workers exposed to benzene and toluene. **Carcinogenesis** 13: 57-61. 1992.
- REMOR AP; TOTTI CC; MOREIRA DA; DUTRA GP; HEUSER VD; BOEIRA JM. Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. **Environment International**. 2008.
- ROCHA LE; RIGOTTO RM; BUSCHINELLI JTP. **Isto é trabalho de gente**. Vida, doença e trabalho no Brasil. Petrópolis. RJ. Vozes, 1994.
- ROJAS E; VALVERDE M; LOPEZ MC; NAUFAL I; SANCHEZ I; BIZARRO P; LOPEZ I; FORTOUL TI; OSTROSKY-WEGMAN P. Evaluation of DNA damage in exfoliated tear duct epithelial cells from individuals exposed to air pollution assessed by cell gel electrophoresis assay. **Mutation Research** 468: 11-17. 2000.

- SALAMA SA; SERRANA M; AU WW. Biomonitoring using accessible human cells for exposure and health risk assessment. **Mutation Research** 436: 99-112. 1999.
- SCHMID W. The micronucleus test. **Mutation Research** 31: 9-15. 1975.
- SIEMIATYCKI J; RICHARDSON L; STRAIF K; LATREILLE R; CAMPBELL S; ROUSSEAU MC; BOFFETA P. Listing occupational carcinogens. **Environmental Health Perspective** 112: 1447-1459. 2004.
- SILVA J; FONSECA MB. Estudos toxicológicos no ambiente e na saúde humana. In: **Genética Toxicológica**. Porto Alegre, pp 71-83. 2003.
- SILVA J; FREITAS TRO; HEUSER VD; MARINHO JR; ERDTMANN B. Genotoxicity Biomonitoring in Coal Regions Using Wild Rodent *Ctenomys torquatus* by Comet Assay and Micronucleus Test. **Environmental and Molecular Mutagenesis** 35: 270-278. 2000.
- SILVA JMGC; SANTOS-MELLO R. Chromosomal aberrations in lymphocytes from car painters. **Mutation Research** 368: 21-25. 1996.
- SINGH NP; MCCOY MT; TICE RR; SCHNEIDER EL. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research** 175: 184-191. 1988.
- SRAM RJ; ROSSNER P; SMERHOVSKY Z. Cytogenetic analysis and occupational health in the Czech Republic. **Mutation Research** 566: 21-48. 2004.
- SVENSSON BG; NISE G; ENGLANDER V; ATTEWELL R; SKERFING S; MOLLER T. Dead and tumors among rotogravure printers exposed to toluene. **Br. J. Ind. Med.** 47: 372-379. 1990.
- SZIRMAI S; BERCES J; KOTELES GJ. Computerized image analysis for determination of micronucleus frequency. **Environmental Health Perspective** 101: 57-60. 1993.
- TICE RR. Applications of the single cell gel assay to environmental biomonitoring for genotoxic pollutants. In: Butterworth BE, Corkum LD, Guzmán-Rincon J, editors. **Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change**. New York: Plenum Press. 69-79. 1995.

TICE RR; AGURELL E; ANDERSON D; BURLINSON B; HARTMANN A; KOBAYASHI H; MIYAMAE Y; ROJAS E; RYU JC; SASAKI YF. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis** 35: 206-221. 2000.

VRZOC M; PETRAS ML. Comparison of alkaline single cell gel (Comet) and peripheral blood micronucleus assays in detecting DNA damage caused by direct and indirect acting mutagens. **Mutation Research** 381: 31-40. 1997.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)