



ALTERAÇÕES NA DINÂMICA MITOCONDRIAL E NA PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS EM LEUCÓCITOS DE INDIVÍDUOS TRABALHADORES DE INDÚSTRIA METALOMECÂNICA

**ABDALLAH, Suelen da Rocha¹; Kuhn, Bianca Alana²; FRIELINK, Ana Paula³;
RUPPENTHAL, Giovana⁴; CAPELETTI, Camila Pileco⁵; AZZOLIN, Gabriela Bonfanti⁶;
BORTOLOTTI, Josiane Wouters⁷; WOLKMER, Patrícia⁸; PARISI, Mariana Migliorini⁹**

Palavras-Chave: Estresse oxidativo. Indústria metalomecânica. Leucócitos. Mitocôndria.

INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento industrial e a necessidade de produção de bens de consumo, a indústria metalomecânica ganhou grande espaço na sociedade (SANTIAGO, 2012). Os processos de transformação dos metais na indústria metalomecânica ocupam ou geram compostos químicos, tais como solventes e metais pesados, que podem ter impactos negativos na saúde humana (MOREIRA, 2015). Estes compostos podem surgir como reações finais de processos como galvanoplastia e soldagem, sendo que o contato imediato e crônico do trabalhador com estes compostos durante a manipulação, armazenamento, transporte, manutenção, reparação e limpeza de equipamentos e recipientes pode desencadear desde processos alérgicos até patologias mais graves (TEIXEIRA, 2000).

¹ Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta, acadêmica bolsista PROBIC do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: susi.abdallah@gmail.com.

² Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta, Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: bia.alana@hotmail.com

³ Biomédica colaboradora do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: ana.frielink@gmail.com

⁴ Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta, voluntária do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: ruppenthalgiovana@icloud.com.

⁵ Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta, bolsista PIBIC do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: camilapileco15@gmail.com.

⁶ Professora da Universidade de Cruz Alta, pesquisadora do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: gbonfanti@unicruz.edu.br.

⁷ Professora da Universidade de Cruz Alta, pesquisadora do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: bortolotto@unicruz.edu.br.

⁸ Professora da Universidade de Cruz Alta, E-mail: pwolkmer@unicruz.edu.br.

⁹ Professora da Universidade de Cruz Alta, pesquisadora do Laboratório de Experimentação e Pesquisa em Saúde, Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde. E-mail: mparisi@unicruz.edu.br.



Os solventes BTX (benzeno, tolueno e xileno) e os metais pesados gerados na indústrias metalomecânica podem ser fontes exógenas de espécies reativas. Espécies reativas são moléculas que possuem em sua órbita externa um elétron não emparelhado, o que gera grande reatividade e lhes confere a capacidade de reagir com o substrato mais próximo para emparelhar seus elétrons, em uma reação que pode resultar em danos às estruturas celulares. As principais espécies reativas são as espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) (SOARES, 2015. KUMAR *et al.*, 2017). A atividade mitocondrial é a principal fonte de produção dos ERO devido à redução do oxigênio (NUÑEZ, 2017). Além disso, patologias diversas e a exposição a uma variedade de produtos exógenos tóxicos, como solventes e metais pesados, pode causar aumento na produção de ERO e ERN (BARBOSA, 2010). O aumento de ERO e ERN no organismo humano está fortemente relacionado a diversas doenças, podendo tanto desencadear como agravar processos patológicos nos indivíduos (AMARAL, 2017).

Desta forma, considerando que a disfunção mitocondrial e o aumento de ERO podem ser induzidas por substâncias tóxicas exógenas e que trabalhadores de indústrias metalomecânicas possuem contato crônico com xenobióticos, o objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros de dinâmica mitocondrial e produção de EROs em leucócitos de indivíduos trabalhadores de indústria metalomecânica.

METODOLOGIA

Estudo observacional de caráter transversal e caso-controle. Foram incluídos 36 indivíduos divididos em um grupo de casos e um grupo de controles. O grupo de casos (n=17) foi composto de indivíduos trabalhadores de indústrias metalomecânicas com exposição crônica a solventes e metais pesados. O grupo de controles (n=19) foi composto de indivíduos sem contato crônico ocupacional com solventes e metais pesados e outras substâncias tóxicas e sem doenças crônicas.

Todos indivíduos participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em duas vias de igual teor. Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cruz Alta sob o parecer 2.442.325. Todo protocolo de pesquisa foi realizado de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e com a Declaração de Helsinki. Os resultados deste trabalho fazem parte de um projeto de pesquisa maior intitulado “Avaliação de alterações hematológicas,



toxicidade celular e qualidade de vida em indivíduos ocupacionalmente expostos a solventes e metais pesados”.

Os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa responderam a um questionário com perguntas sociodemográficas e ocupacionais. Além disso, de cada participante foram coletados 10 mL de sangue venoso periférico em tubo contendo anticoagulante EDTA. Do sangue total foram isolados os leucócitos. Os leucócitos foram utilizados para realizar os ensaios de dinâmica mitocondrial, com as sondas *Mitotracker Green* e *Mitotracker Red*, de acordo com as instruções do fabricante, e de produção de ERO, pela técnica de oxidação do DCFH-DA, de acordo com as instruções do fabricante. Ambos ensaios foram quantificados por citometria de fluxo no Citômetro de Fluxo *Accuri C6 Plus* (BD Biosciences, EUA).

Os dados foram expressos através de média e desvio padrão e comparados através de Teste T Student. As análises foram realizadas considerando-se um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$) e foram executadas no software *GraphPad Prism 6®* (GraphPad Software Inc., version 6.01).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Em relação aos dados demográficos, não houve diferença significativa entre a idade (controles $39,12 \pm 13,95$ versus casos $31,23 \pm 8,24$, $p > 0,05$) e o índice de massa corporal (controles $25,05 \pm 2,4$ versus casos $26,45 \pm 3,8$, $p > 0,05$) dos participantes. O grupo de controles incluiu 9 (47,33%) homens e o grupo de casos inclui 15 homens (88,23%). No que diz respeito às características dos trabalhadores das indústrias metalomecânicas, contatou-se que o tempo médio de trabalho foi de $2,42 \pm 1,05$ anos e que prevaleceu os trabalhadores do setor de solda ($n=7$, 43,7%). Foi relatado pelos indivíduos que o uso de EPIs recomendados era feito diariamente.

A avaliação da oxidação de DCFH-DA mostrou que leucócitos de indivíduos trabalhadores de indústria metalomecânica apresentam produção de ERO significativamente maior que leucócitos de indivíduos controles (controles 11.711 ± 4.155 versus casos 17.057 ± 8.452 , $p < 0,05$). Além disso, o ensaio de *Mitotracker Green* e *Mitotracker Red* mostrou que leucócitos de indivíduos trabalhadores de indústria metalomecânica apresentam maior massa mitocondrial (controles 37.943 ± 16.603 versus casos 53.393 ± 10.683 , $p < 0,05$) e maior potencial de membrana mitocondrial (controles 24.813 ± 9.884 versus casos 69.167 ± 15.849 , $p < 0,05$) em relação aos leucócitos de indivíduos controles.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Detectamos alterações na dinâmica mitocondrial de leucócitos de indivíduos ocupacionalmente expostos a PHA e metais pesados. Estas alterações incluíram aumento da massa e do potencial de membrana mitocondrial. Foi constatado um aumento da produção de EROs sugerindo um ambiente pró-oxidante nas células destes indivíduos. Assim, as alterações encontradas neste estudo podem ser um preditor de uma maior susceptibilidade dos trabalhadores de indústrias metalomecânicas ao desenvolvimento de comorbidades. Os dados obtidos neste trabalho serão retornados a empresa participante do trabalho e aos indivíduos participantes afim de conscientizá-los da importância da utilização de EPIs e do monitoramento ocupacional de marcadores de saúde.

REFERÊNCIAS

AMARAL, Isabele Campos Costa. *et al.* Avaliação ambiental de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) e biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores de postos de combustíveis. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**. v. 1. p. 1-14. 2017. ISSN: 2317-6369. Acesso em: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-6369000124515>.

BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista. Nutrição**. p. 629-643. 2010.

MOREIRA, Fátima Ramos; MOREIRA, Josino Costa. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panam Salud Public**. p.119-129. 2004.

MOREIRA, Karen Bruski. *et al.* Avaliação do perfil hepático e toxicológico em trabalhadores metalúrgicos de Caxias do Sul, RS, Brasil. **III Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG**. p. 940-949. 2015.

SANTIAGO, Emerson. **Indústria metal-mecânica**. 2017. <http://www.infoescola.com/economia/industria-metal-mecanica>. Acessado em: 13-de agosto de 2017.

SOARES, Elaine dos R. *et al.* Compostos bioativos em alimentos, estresse oxidativo e inflamação: uma visão molecular da nutrição. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**. p. 64-71. 2015.

TEIXEIRA, Nilton. **Cadernos de saúde do trabalhador: risco do trabalhador no ramo metalúrgico**. São Paulo. v. 1. p. 9-15. 2000.