

## EFEITO GENOTÓXICO DE METAIS TRAÇO EM ÁREA CONTAMINADA NA BAHIA

### **Jacqueline Ramos Machado Braga**

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)  
Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas – G1  
Rua Rui Barbosa, 710 – Centro – Cruz das Almas/BA – Brasil  
CEP: 44.380-000  
Fone: 55-75-91806963/ 55-75-36212350  
E-mail: [jacquebraga@ufrb.edu.br](mailto:jacquebraga@ufrb.edu.br)

### **Introdução**

A bioacumulação de metais traço em organismos vivos é um dos efeitos mais sérios de contaminação ambiental, porque ambos animais e plantas podem concentrar estes elementos em níveis muito superiores aos encontrados no meio ambiente, promovendo o transporte nos vários níveis da cadeia alimentar (MOULIS E THEVÉNOD, 2010). Embora o tema relacionado com a contaminação por metais traço em vários animais seja largamente divulgado pela literatura científica, estudos genéticos ainda são limitados em bovinos de regiões impactadas.

Em 1960, a Companhia Brasileira de Chumbo (COBRAC), posteriormente denominada Plumbum, estabeleceu-se na periferia da cidade de Santo Amaro da Purificação, região do Recôncavo da Bahia, no Brasil. Após o primeiro ano de operação, a fundição já havia causado a morte de cavalos e gado e, segundo estimativas, até 1976 tinham sido lançadas na atmosfera cerca de 400 toneladas de cádmio (CARVALHO, et al., 1984). Na escória predominam os metais traço chumbo (Pb) e cádmio (Cd), considerados resíduos sólidos perigosos e altamente tóxicos. Os dados ambientais existentes sobre a área da usina, já desativada, indicam que as águas superficiais, o solo, e a água subterrânea apresentam concentrações de Pb e Cd acima dos limites vigentes (ANJOS, 2003).

Magna et al (2011) estudaram vegetais e gramíneas locais próximos à Plumbum e áreas adjacentes. As espécies de gramíneas analisadas apresentaram concentrações de Pb que chegaram até 820mg/kg, enquanto que as de Cd atingiram níveis de até 7,99mg/kg. A ingestão acidental, aguda ou crônica de metais traço em bovinos, pode resultar em inúmeras afecções que podem não ser perceptíveis clinicamente, devido à sua baixa seletividade alimentar, sendo a ingestão o principal meio de intoxicações destes animais (SOUZA, et al., 2009).

Estudos em seres humanos mostram os inúmeros efeitos embriológicos tóxicos do Pb (ANDREWS et al., 1994; MOREIRA e MOREIRA, 2004). Segundo Cebra e Cebra (2004), em animais, os sais de Pb inorgânicos são associados com eventos relacionados à malformação fetal do sistema nervoso central, fissura palatina em camundongos, defeitos de cauda de hamsters, hidronefrose, defeitos esqueléticos em ratos e abortos e malformações espinhais em ovinos expostos, uma vez que o mineral atravessa a placenta e se deposita em tecidos fetais.

Segundo relatos de habitantes da região de Santo Amaro, muitos animais criados extensivamente “nasceram com malformações” (bicefalia) ou “tiveram abortos sucessivos”. O estudo anterior de Carvalho et al, (2003) revelou que o gado usualmente entra nas dependências da fundição abandonada para pastar e beber da água que se acumula nos

ISSN 2236-0476

antigos tanques de contenção, na área da empresa. A população da cidade costuma consumir carne e leite destes animais. O objetivo do presente estudo foi realizar uma avaliação preliminar do efeito genotóxico da exposição ao Pb e Cd em bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*) expostos na área da Fundação Plumbum, utilizando como análise preliminar o teste citogenético padrão para AC em metáfases de linfócitos de sangue periférico.

### Material e Métodos

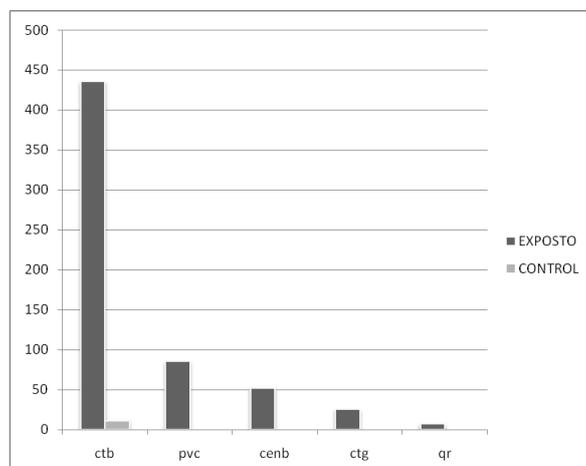
O grupo exposto foi composto de 38 bovinos (*Bos taurus indicus*) da cidade de Santo Amaro da Purificação- BA, Brasil, que pastavam na área e bebiam água do tanque de contenção da fundição Plumbum. O grupo controle foi obtido em matadouro, com lote inspecionado e certificado (10 espécimes).

Foram coletados 10 ml de sangue periférico por punção venosa jugular com seringas contendo heparina sódica. A cultura foi realizada de acordo com a técnica convencional de Moorhead et al (1960), com adaptações. Uma vez recolhida a camada de leucócitos, foram adicionadas alíquotas ao meio RPMI1640 com fitohemaglutinina (PHA) acrescido de soro bovino fetal (1ml). Cada alíquota foi dividida e distribuída em 2 frascos de fundo chato submetidos à incubação (96hs/37°C). O material sofreu colchicinização (2 gotas de Colchicina a  $4 \times 10^{-5} M$ ) e incubadas por 1h. O conteúdo dos frascos foi centrifugado (500rpm/5min) e o *pellet* submetido à hipotonização (3 ml KCl a 0,075 M/ 37°C/15min). A fixação foi realizada com 0,5 ml de metanol e ácido acético glacial (3:1). Os tubos foram centrifugados (500rpm/5min), o sobrenadante foi cuidadosamente eliminado e as células suspensas em 5ml do fixador por 3 vezes obtendo-se 0,5 ml de uma suspensão concentrada de células. Após coloração convencional (Giemsa), as lâminas foram submetidas à microscopia de luz (1000X) com filtro azul. Foram analisadas entre 50 e 100 células por amostra cega de cada animal. A análise estatística foi realizada pelo teste não paramétrico para amostras independentes (Wilcoxon Signed Rank Test).

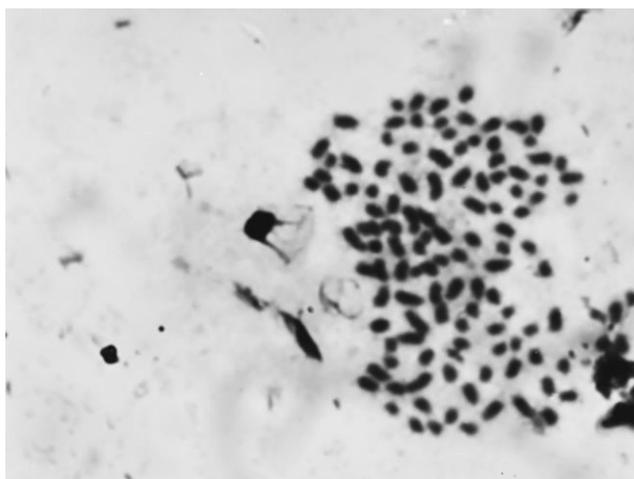
### Resultados

Do grupo de animais expostos, foram analisadas no total 2698 células, das quais 510 (18,94%) apresentaram uma ou mais anormalidades cromossômicas (AC). No grupo controle, a taxa de anormalidades espontâneas foi de 11 células (2,34%) do total de 470 analisadas. As taxas de AC, observadas em animais expostos, foram comparadas com as taxas de anormalidades espontâneas no grupo controle, onde o índice estava dentro da faixa esperada para populações de bovinos normais (1-4%) ( $p < 0,0001$ ).

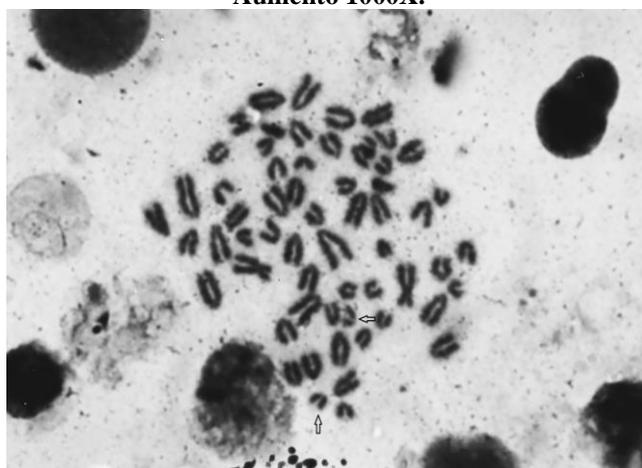
A Fig. 1 mostra os tipos de alterações observadas nas metáfases analisadas no grupo exposto ao Pb e ao Cd. Houve uma maior diversidade de tipos de AC no grupo exposto de animais, quando comparado com o grupo controle saudável. Dentre os tipos de AC encontrados foram identificados: quebra cromatídicas (ctb), pulverização (pvc), gap de cromátide (ctg), quebra de centrômeros (cenb) e figura quadrirradial simétrica (qr) (Figuras 2-4).



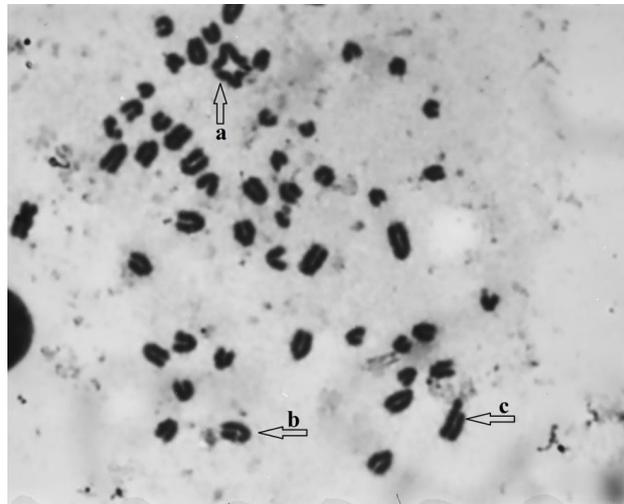
**Figura 1 . Distribuição das metáfases de acordo com o tipo de alteração no grupo exposto ao Pb e Cd e no grupo controle; ctb (quebra cromatídica), pvc (pulverização), cenb (quebra de centrômero), ctg (gap cromatídico) e qr (figura quadrirradianal). ( $p < 0.0001$ ).**



**Figura 2 Metáfase de bovino exposto com pulverização cromossômica (pvc). Cariótipo normal  $n=30$ . Aumento 1000X.**



**Figura 3 Metáfase de bovino exposto com quebras de centrômero (cenb) (setas). Aumento 1000X**



**Figura 4** Metáfase de bovino exposto com figura quadrirradial (a) e gap cromatídico (b;c).  
Aumento 1000X

### Discussão

No estudo de Costa (2001) foram analisadas as concentrações de Pb e Cd em amostras de sangue bovino de animais sacrificados na cidade de Santo Amaro da Purificação. O estudo revelou que o nível médio de Pb era de  $28,4 \pm 22,0$  mg/dL, contra  $1,74 \pm 0,68$  mg/dL dos controles. Dados anteriores de Anjos (2003) indicam que as concentrações médias de Pb e e Cd no solo e nas águas superficiais da área da Plumbum ainda encontram-se muito acima dos limites estabelecidos, indicando mais uma possível fonte de contaminação para o gado. Considerando a possibilidade de sua migração para a cadeia alimentar, através da ingestão direta da vegetação pelos animais, o mesmo estudo analisou as concentrações de Pb e Cd em amostras de gramíneas e do leite destes animais. As concentrações de Pb e Cd nas gramíneas e no leite superam os valores de referência. Estes dados corroboram as suspeitas de que as AC observadas na área em estudo sejam devido à contaminação do solo, águas e gramíneas, o que representa um risco potencial àqueles animais que compartilham deste ambiente impactado.

A alta incidência de AC, encontradas no grupo de bovinos expostos da cidade de Santo Amaro da Purificação, é corroborada por achados de Moreira e Moreira (2004) que indicam que o Pb pode causar alterações clínicas em bovinos, causando interferências no ciclo reprodutivo destes animais.

Um estudo recente realizado por Banfalvi (2012) com embriões bovinos, demonstrou uma redução significativa na taxa de crescimento dos embriões que apresentavam AC. A genotoxicidade dos metais é geralmente causada por três mecanismos: a indução de estresse oxidativo, a inibição do sistema de reparo do DNA e a desregulação da proliferação celular (BEYERSMANN e HARTWIG, 2008). O estudo de Machado et al, (2013) sugere que o Cd não é diretamente mutagênico, mas um forte agente co-mutagênico que interfere no sistema de reparo do DNA. Estes dados poderiam explicar a presença de pulverizações cromossômicas (pvc) encontrado no grupo de animais expostos (Fig. 2).

Dados de Salgado (2008), comparando a toxicidade do Pb e do Cd em diferentes tipos celulares, indicam que os efeitos causados por distorções na cromatina levariam as células à apoptose. Estes dados corroboram os achados no grupo de bovinos de Santo Amaro da

ISSN 2236-0476

Purificação, pois o efeito da contaminação por Pb e Cd poderia somar os efeitos danosos de ambos os metais sobre a estrutura da cromatina destes animais, levando ao aparecimento de distorções caracterizadas na elevada frequência de AC encontrada.

Os estudos de Souza et al (2009) indicam que a presença de indústrias em uma região não necessariamente resulta no aumento das concentrações de metais traço em matrizes biológicas de bovinos. Esses achados diferem do presente estudo, pois as frequências de anormalidades cromossômicas encontradas em animais expostos a Pb e Cd, provam indiretamente que houve um aumento das concentrações desses metais no sangue destes animais.

Entretanto, os resultados encontrados para o gado de Santo Amaro corroboram os achados epidemiológicos de Salgado (2008) que revelaram que o Pb interfere com os processos que induzem uma desestabilização cromossômica da cromatina, inibindo o mecanismo de reparo do DNA. A falha neste mecanismo poderia explicar a presença de anormalidades cromossômicas encontradas nos bovinos, incluindo eventos raros como figuras quadriradiais (qr) (Fig. 4).

### Conclusão

Os resultados do presente estudo demonstram que a distinção entre os animais expostos e não expostos, através dos níveis de AC, constitui evidência indireta da ação clastogênica do Pb e do Cd na cromatina de bovinos. Isto promove novas considerações para o entendimento dos efeitos biológicos indiretos de metais traço e sua bioacumulação para as gerações futuras destes animais e o conseqüente risco à saúde humana.

### Referências

- ANDREWS, K.W; SAVITZ, D.A.; HERTZ-PICCIOTTO, I. Prenatal lead exposure in relation to gestational age and birth weight: a review of epidemiologic studies. **Am J Ind Med**. 26(1):13-32, 1994.
- ANJOS, J.Â.S.A. **Avaliação da eficiência de uma zona alagadiça (wetland) no controle da poluição por metais pesados: o caso da Plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA** [tese]. São Paulo:, Escola Politécnica; 2003. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3134/tde-28042004-094552/>. Acessado em 18 Novembro 2012.
- BANFALVI, G.; SARVARI, A.; NAGY, G. Chromatin changes induced by Pb and Cd in human cells. **Toxicol In Vitro** .26(6):1064-71, 2012.
- BEYERSMANN, D; HARTWIG, A. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. **Arch Toxicol** . 82:493-512, 2008.
- CARVALHO, F.M.; SILVANY NETO, A.M.; TAVARES, T.M.; COSTA, A.C.A.; CHAVES, C.R.; NASCIMENTO, L.D., et al. Chumbo no sangue de crianças e passivo ambiental de uma fundição de chumbo no Brasil. **Rev Panam Salud Publ** [serial on the Internet]. 2003 Jan; 13(1):19-23. Disponível em: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1020-49892003000100003&lng=en](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892003000100003&lng=en) Acessado em 18 Fevereiro de 2013.
- CARVALHO, F.M.; TAVARES, T.; SOUZA, S.P.; LINHARES, P. Lead and cadmium concentrations in the hair of fisherman from the Subaé River basin, Brazil. **Environ Res**. 33:300, 1984.
- CEBRA, C.K.; CEBRA, M.L. Altered mentation caused by polioencephalomalacia, hypernatremia, and lead poisoning. **Vet. Clin. Food Anim** . 20:287-302, 2004.
- COSTA, A.C.A. **Avaliação de alguns aspectos do passivo ambiental de uma metalurgia de chumbo em Santo Amaro da Purificação, Bahia**. Dissertação (mestrado) – Programa de PósGraduação em Química. Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2001. 91p. Disponível em [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=2315836&pid=S1020-4989200300010000300007&lng=en](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=2315836&pid=S1020-4989200300010000300007&lng=en) Acessado em 8 de fevereiro de 2013
- MACHADO, S.L.; RABELO, S.T.; PORTELLA, R.B.; MAGNA, G.A.M.; CARVALHO, M.F. A study of the routes of contamination by lead and cadmium in Santo Amaro, Brazil. **Environ Technol**, 2012 Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330.2012.692717> Acessado em 10 fevereiro de 2013.



**ISSN 2236-0476**

MAGNA, G.A.L.; MACHADO, S.L.; PORTELA, R.B. Conteúdo de Cd e Pb em alimentos vegetais e gramíneas no Município de Santo Amaro–BA. In: ANAIS DO VII CONGRESSO BRASILEIRO DE GEOTECNIA AMBIENTAL E VI SIMPÓSIO BRASILEIRO DE GEOSINTÉTICOS REGIO/GEOSINTÉTICOS – Belo Horizonte. 2011..

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Rev Panam Salud Publ.** 15(2):119–29, 2004.

MOULIS, J.M.; THEVÉNOD, F. New perspectives in cadmium toxicity: an introduction. **Biometals.** 23:763–768, 2010.

SALGADO, P.E.T. Metais em Alimentos. In: OGA S. **Fundamentos de Toxicologia.**, São Paulo : Atheneu; 2008.

SOUZA, M.V.; VIANNA, M.W.S.; ZANDIM, B.M.; FERNANDES, R.B.A.; FONTES, M.P.F. Metais pesados em amostras biológicas de bovinos. **Ciênc Rural.** 39(6):1774-1781, 2009.