



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNCIONAL DOS FAGÓCITOS EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS OCUPACIONALMENTE OU NÃO AO XILOL

MORAES, Ciro Souza¹; HOSOKAWA, Fábio Ferreira²; PERILLO, Maria Paula Thees³ PFRIMER, Irmtraut Araci Hoffmann⁴

Palavras-chave: Xilol; Ácido Metilhipúrico; Fagocitose; Neutrófilo

1. INTRODUÇÃO

O xilol é um líquido incolor, praticamente insolúvel em água e miscível em etanol, éter e outros solventes orgânicos (MERCK et al. 1995). De acordo com a resolução nº 358, de 29 de abril de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2005) o xilol está classificado no grupo B. Este grupo enquadra os resíduos que contém substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade (BRASIL, 2005). Sua contaminação é persistente e bioacumulativa podendo causar danos à saúde e ao meio ambiente. O xilol é um produto indispensável para a realização de exames de anatomia patológica e citologia. A função deste é de tornar os tecidos translúcidos, participando da etapa de clareamento ou diafanização destes (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Devido ao aumento de ocorrências de doenças profissionais principalmente as provocadas por intoxicação de produtos químicos, programas de saúde e segurança foram implementados. Foram criadas normas regulamentadoras que visam a saúde e integridade do trabalhador, como a NR7 que estabeleceu parâmetros biológicos à exposição ocupacional a produtos químicos, sendo que o utilizado para o xilol é o ácido metilhipúrico (MTE, 1978a); e a NR15 que determinou o limite de tolerância permitido no ambiente ocupacional de 78 ppm até 48 horas /semanas ou 340 mg/m³ (MTE, 1978b). Este trabalho objetivou analisar a atividade funcional de fagócitos em histotécnicos de laboratórios de anatomia patológica e de controles não expostos ao xilol.

2. METODOLOGIA

Grupo de Estudo

Foram selecionadas 25 amostras histotécnicos expostos ocupacionalmente ao xilol, de ambos os gêneros com faixa etária entre 22 e 50 anos e, 10 controles não expostos saudáveis conforme as determinações da OMS, de ambos os sexos e com idade entre 20 e 52 anos. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Goiás (Protocolo n.º COEP/UCG N.108/2004).

Dosagem do ácido metilhipúrico

A metodologia utilizada para a quantificação do ácido metilhipúrico na urina foi a cromatografia líquida de alta performance. Este método é recomendado pela NIOSH, *National Institute for Occupational Safety and Health* (MORIN et al. 1981; PHIPPS 1994).

Avaliação Funcional de Fagócitos

Para a avaliação funcional de neutrófilos foi coletado 10mL de sangue em tubo *Vacutainer* contendo heparina. Foram dispostos 40 μ L de sangue em cada uma das áreas delimitadas da lâmina de microscopia marcada e o restante foi centrifugado (o plasma serviu como fonte de complemento para sensibilizar as leveduras). As lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°C por 45 minutos e o sangue foi desprezado. As hemácias e as células não aderentes foram retiradas pela lavagem da lâmina com PBS a 37°C, delicadamente. Foram distribuídos 20 μ L de suspensão contendo $2,5 \times 10^5$ *Saccharomyces cerevisiae* em Hank-Tris (Sigma, St. Louis, MO USA), pH 7.2, com ou sem 10% de plasma do próprio doador sobre as áreas contendo os fagócitos aderidos, em duplicata. A lâmina foi incubada em câmara úmida a 37°C por 30 minutos. As lâminas foram lavadas delicadamente com PBS para retirar as leveduras não aderidas. Logo após, foi disposta uma gota (20 μ L) de Hanks-Tris com 30% de soro humano sobre todas as preparações. A lâmina foi fixada com metanol por 1 min e corada com Giemsa a 10% por 10 minutos. A lâmina foi visualizada ao microscópio óptico, aleatoriamente, com objetiva de imersão, contando 200 neutrófilos para determinar o índice fagocitário. Em um campo todas as células foram analisadas. O índice fagocitário (IF) foi calculado pela seguinte equação: IF = média de leveduras fagocitadas por fagócito X proporção de fagócitos envolvidos na fagocitose.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Substâncias químicas são utilizadas em quase todas as atividades humanas; Apesar dessas substâncias serem tão comuns no nosso meio e de terem implicações diretas sobre a poluição ambiental e a saúde humana ainda não foram tomadas medidas suficientes para se evitar a ocorrência de doenças e danos ao meio ambiente (SCHIO, 2001). Os níveis de ácido metilhipúrico na urina dos histotécnicos e controles se apresentaram dentro dos limites de tolerância permitidos. SEDIVEC & FLEK (1976a,1976b), observaram que indivíduos expostos ao xilol tiveram pico máximo de excreção após 8 horas consecutivas de contato com a substância, tendo decrescido espontaneamente nas horas seguintes. Estes mesmos pesquisadores concluíram que existia uma relação linear entre o ácido metilhipúrico excretado na urina e a concentração do xilol no ar. RIIHIMÄKI et al. (1979), demonstraram que nas primeiras 8 horas a taxa de excreção do ácido metilhipúrico foi elevada e que nas 8 horas seguintes após exposição ao xilol, das 8 as 16hs, a taxa de excreção declinou consideravelmente, de 6,3 (mmol)^e para 1,0 (mmol)^e. Os histotécnicos que participaram do presente projeto relataram que faziam uso da máscara apropriada, óculos e luvas quando em contato direto com o xilol, o que pode justificar em parte os resultados encontrados. O índice fagocitário de neutrófilos do sangue periférico de histotécnicos foi significativamente maior do que o de controles normais utilizando-se leveduras sensibilizadas ou não ($p < 0,005$, teste U de Mann-

Whitney). Não foram encontrados trabalhos que relatam o aumento da atividade fagocitária dos neutrófilos em indivíduos expostos ao xilol isoladamente. Em outro trabalho sobre o índice fagocitário dos leucócitos, foi estudada a fagocitose do fungo *Lacazai lobo*, parasita causador da doença de Jorge Lobo (Moreno et al., 2004). Estes autores constataram que o índice fagocitário dos monócitos do sangue de indivíduos portadores do *L. lobo* não diferiu da atividade fagocitária dos monócitos do grupo controle. Entretanto, verificaram que as células dos portadores de micose são mais eficazes em fagocitar o fungo. O índice fagocitário elevado em histotécnicos reflete uma alta atividade dos neutrófilos desses indivíduos, podendo se encontrar em estado de estimulação constante mesmo quando o organismo não se encontra diante de situações que exijam liberação de citocinas, fatores quimiotáticos e outras substâncias que estão relacionadas com mecanismo de defesa. Assim a hiperativação dos neutrófilos poderá contribuir para o aparecimento de lesões teciduais.

4. CONCLUSÃO

Nossos dados indicam que a utilização do xilol nesta atividade ocupacional induz alterações qualitativas em neutrófilos do sangue periférico sugerindo hiperativação destas células.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brasil. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução n.º 358 de 29 de abril de 2005. *Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências*. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil] Brasília, 04 de maio. 2005.
- Junqueira CL, Carneiro J. *Histologia Básica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
- Merck & CO. *The Merck index: an Encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. New Jersey: Whitehouse Station; 1995.
- Ministério do Trabalho e Emprego (Brasil). Portaria n.º 3214, de 08 de junho de 1978. Norma Regulamentadora – NR7 – Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional (107-000-2). Brasília: MTE; 1978a.
- Ministério do Trabalho e Emprego (Brasil). Portaria n.º 3214, de 08 de junho de 1978. Norma Regulamentadora – NR15. Atividades e Operações Insalubres. Brasília: MTE; 1978b.
- Moreno FRV, Silva LM, Opromolla DVA. *Evaluation of the phagocytic activity of peripheral blood monocytes of patients with Jorge Lobo's disease*. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2004 mar;37(2).
- Morin M, Chambrom R, Bichet N. *Measurement of exposure to xylenes by separate determination of m- and p- methylhippuric acids in urine*. Journal of Chromatography 1981; 210: 346-349.
- Phipps F. *Hipuric and methyl hipuric acids in urine*, Method 8301. Manual of Analytical Methods, 4th edition. Cincinnati, OH: Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health. DHHS (NIOSH) 1994; 2: 94-113.

Riihimäki V, Pfäffli P, Savolainen K. *Kinetics of m-xylene in man. Influence of intermittent physical exercise and changing environmental concentrations on kinetics.* Scand J. Environ. & Health 1979; 5: 232-248.

Schio R. *Caracterização Toxicológica de produtos domésticos que geram resíduos sólidos perigosos e sua destinação no município de Campo Grande.* Mato Grosso do Sul; 2001. Mestrado (Dissertação em Tecnologias Ambientais) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Sedivec V & Flek J. *The absorption, metabolism and excretion of xylenes in man.* Int Arch Occup Environ Health 1976 a; 37: 205-217.

Sedivec V & Flek J. *Exposure test for xylenes.* Int Arch Occup Environ Health 1976 b;37:219-233.

¹Bolsista de iniciação científica do programa PIBIC-CNPq. Curso de Biomedicina, Laboratório de Imunologia/UCG, cirosm@pop.com.br

²Bolsista de iniciação científica do programa BIC-UCG. Curso de Biomedicina, Laboratório de Imunologia/UCG, fabio_hosokawa@yahoo.com.br

³Co-orientador / Laboratório de Imunologia-UCG. theesperillo@pop.com.br

⁴Orientador /Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde/UCG, Laboratório de Imunologia-UCG, pfrimer@brturbo.com.br