



## AVALIAÇÃO DO RISCO OCUPACIONAL DE MINERADORES DE CARVÃO DE CANDIOTA (RIO GRANDE DO SUL)

Henrico da Rosa Vieira<sup>1</sup>  
Melissa Rosa de Sousa<sup>2</sup>  
Juliana da Silva<sup>3</sup>

### Resumo

A energia é um item essencial para o desenvolvimento socioeconômico. Para o processo de produção da energia é possível utilizar diversas fontes, uma delas é o carvão mineral, que foi uma das primeiras fontes empregada pelo homem no processo de energia em larga escala. O carvão é uma mistura complexa de variadas substâncias química orgânicas, constituído principalmente por moléculas de hidrocarboneto e oxigênio, e pequenas quantidades de nitrogênio e enxofre. O Brasil representa a 10ª maior reserva de carvão do mundo, totalizando 12 bilhões de toneladas. O Rio Grande do Sul é responsável por quase 90% das reservas nacionais, e a Jazida de Candiota (RS) possui cerca de 30% de todo o carvão nacional. Algumas substâncias que compõem o carvão apresentam o potencial de produzirem efeitos mutagênicos e carcinogênicos em organismos expostos a este mineral. Com isso a exposição ao carvão e o seu potencial genotóxico e mutagênico veem sido estudado com diferentes enfoques em diversos organismos. Levando em consideração que a composição do carvão tem o potencial de apresentar certos componentes genotóxicos. Este trabalho tem como objetivo realizar o biomonitoramento de uma amostra de trabalhadores deste setor da região de Candiota (RS). Para este estudo foi coletado amostras de sangue total de 147 indivíduos, sendo 71 mineradores expostos ao carvão e 76 indivíduos não expostos da mesma região. Foram avaliados nas amostras o teste de micronúcleos em linfócitos e o ensaio cometa.

Palavras-chave: Carvão Mineral, ensaio cometa, teste de micronúcleos.

### INTRODUÇÃO

Para a produção de energia é possível utilizar diversas fontes, estas fontes podem ser classificadas como renováveis ou não renováveis. Em 2010, no Brasil estas fontes foram responsáveis respectivamente por 45,4% e 54,6% da oferta interna de energia no país. Como fontes renováveis de energia podemos citar: biomassa, eólica, geométrica, hidráulica e solar. Enquanto as fontes renováveis são capazes de se regenerar por meios naturais, as fontes não renováveis fazem o uso de combustíveis, dentre eles os fósseis como: petróleo, gás natural e o carvão mineral. Os combustíveis fósseis são responsáveis por 85% da energia consumida mundialmente (ENERGÉTICA, 2011).

O carvão mineral, ou simplesmente carvão, foi uma das primeiras fontes de energia utilizada pelo homem para a produção de energia elétrica em larga escala (ANEEL, 2008). É

---

1 Aluno de graduação em Farmácia da ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS – henrico.rosavieira@gmail.com

2 Mestranda em Biologia Celular e molecular aplicada à Saúde Biomédica – Bolsista CAPES – melissa.eh@hotmail.com

3 Professora do curso de graduação de Biologia da ULBRA e PPGBiosaude – juliana.silva@ulbra.br

constituído por uma mistura complexa de substâncias química orgânicas, sendo principalmente constituída por carbono, hidrogênio e oxigênio e por quantidades menores de enxofre e nitrogênio (GIBSON, 1979). O carvão é formado a partir da deposição de matéria orgânica vegetal em bacias sedimentares sofrendo a ação da temperatura e da pressão em ambientes anaeróbicos. Ao longo do tempo geológico este material armazenado se solidifica, através do processo de carbonificação, perdendo hidrogênio e oxigênio e enriquecendo-se de carbono. Sua qualidade é determinada pela concentração de carbono, que é aumentada com o passar dos estagio de carbonificação. O nosso país dispõe de uma das maiores reservas de carvão da América latina, representando a 10ª maior do mundo, totalizando 12 bilhões de toneladas. O Rio Grande do Sul é responsável por quase 90% das reservas nacionais, e a Jazida de Candiota (RS) possui cerca de 30% de todo o carvão nacional.

A exposição ao carvão e os seus efeitos tem sido estudados com diferentes enfoques e em diversos organismos, como anelídeos, mamíferos, linhagens celulares e também em humanos (CELIK et al., 2007; DA SILVA et al., 2000; LEON-MEJIA et al., 2011; LEON et al., 2007). Muitos dos compostos do carvão, em especial elementos inorgânicos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos apresentam o potencial de produzirem efeitos genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos em organismos expostos a este mineral. Este trabalho tem como objetivo realizar o biomonitoramento de uma amostra de trabalhadores deste setor da região de Candiota (RS). Para este estudo foi coletado amostras de sangue total de 147 indivíduos, sendo 71 mineradores expostos ao carvão e 76 indivíduos não expostos da mesma região. Foram avaliados nas amostras o teste de micronúcleos em linfócitos e o ensaio cometa.

O teste cometa ou SCGE (*Songle Cell Gel Eletrophoresis Assay*) é considerado um teste de genotoxicidade, sendo capaz de detectar os danos ao DNA induzidos por agentes alquilantes, intercalantes e oxidantes. Este teste tem como vantagem a simplicidade, rapidez e sensibilidade em detectar pequenas alterações e baixo custo. Porém esta análise não é considerada como um teste de matagenicidade uma vez que o efeito do reparo ao DNA pode mudar o resultado final considerando a fixação de mutação (DUSINSKA; COLLINS, 2008).

O teste de micronúcleos em linfócitos, ou teste de micronúcleo com bloqueio da citocinese (MNCtB) é um método utilizado para medir a frequência de micronúcleos (MN) em cultura de células de linfócitos humanos. Os micronúcleos são estruturas resultantes de partes cromossômicas ou de cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo de células filhas no momento da divisão celular (FENECH, 2007). Neste teste as células que completaram uma divisão celular têm a sua citocinese bloqueada, devido o uso da citocalasina B capaz de inibir a polimerização da proteína actina. Esta proteína é responsável para a formação do anel de microfilamentos que resulta na indução da contração do citoplasma e consequentemente na clivagem da célula em duas células-filhas (FENECH , 2000) Deste modo a análise de micronúcleos fica restrita apenas as células com aparência binucleada. Esta restrição evita subestimativas da frequência de MN resultantes da contagem de células que não passaram por um ciclo de divisão celular e que não poderiam expressar estas estruturas. Esta metodologia tem a possibilidade de comparar a frequência de danos cromossômicos entre diferentes populações celulares que podem deferir quanto a sua cinética de divisão. Além de conferir a técnica uma boa reprodutibilidade e confiabilidade, o que tem contribuído para a adoção do MNCtB como um teste citogenético padrão na genética toxicológica(FENECH, 2007).

## METODOLOGIA

O teste cometa foi realizado conforme Singh et al., 2007. Amostras de sangue total dos indivíduos e após, embebidas em gel de agarose de baixo ponto de fusão (*Low-melting*). Esta mistura foi disposta sobre a superfície de uma lâmina com pré-cobertura de agarose de ponto de fusão normal e coberta por uma lamínula. A lâmina foi levada em gelo para a total solidificação da agarose, e então a retirada a lamínula. As lâminas são transferidas para uma solução contendo alta concentração de sais e substâncias detergentes afim de lisar as células, removendo o seu conteúdo citoplasmático e membrana nuclear. Em seguida as lâminas foram incubadas em um tampão alcalino para a hidratação do material, então o DNA foi submetido à eletroforese neste mesmo tampão de modo a induzir a migração dos fragmentos DNA no sentido da corrente elétrica. Finalmente as lâminas foram coradas em substâncias capazes de se associarem ao DNA, como o nitrato de prata. As lâminas então foram submetidas a análise em microscopia óptica, os nucleotídeos contendo o DNA intacto se apresentaram de forma redonda, enquanto nas células lesadas foi possível se observar a migração do DNA para fora do núcleo apresentando uma forma similar de um “cometa”.

No teste de micronúcleos em linfócitos foi usada uma alíquota de sangue total de cada indivíduo que foram adicionadas separadamente ao meio de cultura celular RPMI 1640, suplementados com soro bovino fetal e antibiótico. Os frascos foram cultivados a 37°C por 44 horas, após este período foi adicionado ao meio a citocalasina B e incubado por mais 28 horas. Após a incubação os linfócitos foram colhidos, fixados em uma lâmina de microscopia através de citocentrífuga, corada e analisada em microscopia óptica (FENECH, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste ensaio podem ser analisados nos gráficos. Foi encontrada uma diferença significativa entre os grupos de indivíduos para ambos os parâmetros avaliados indicando o aumento do índice de danos e a frequência de danos (figura 1) ao DNA do grupo exposto em relação ao grupo não exposto ( $P < 0,0001$ ).

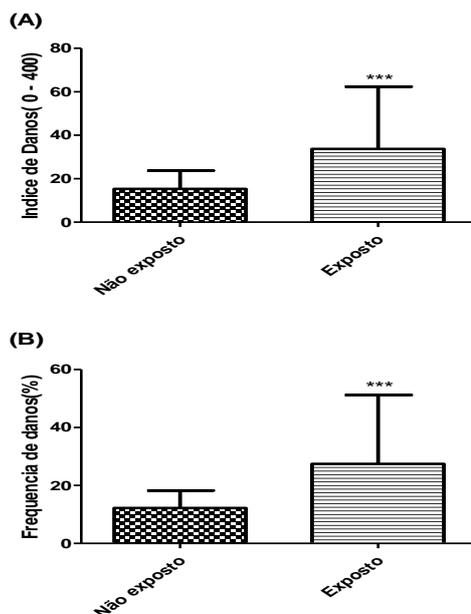


Fig. 1. Índice de Danos e Frequência de danos em células de trabalhadores de minas de carvão e indivíduos não expostos. Dados significativos em relação ao grupo controle \*\*\*  $P < 0,0001$ ; t-teste não pareado.

Os resultados obtidos em relação ao Teste de Micronúcleo em linfócitos (figura 2) mostram que trabalhadores nas minas de carvão de Candiota em comparação aos indivíduos não expostos apresentam uma maior frequência de micronúcleos ( $P < 0,0001$ ) demonstrando que a exposição ao carvão mineral pode ser a responsável pelos efeitos genotóxicos e mutagênicos observados.

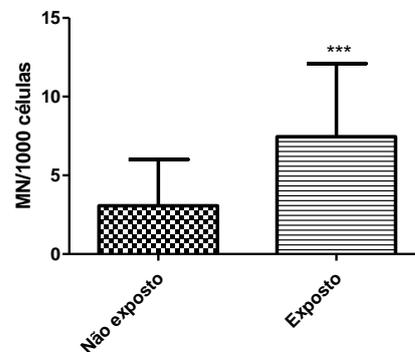


Fig. 2. Detecção de danos no DNA pelo teste MN em linfócitos de trabalhadores de minas de carvão e indivíduos não expostos. Dados significativos em relação ao grupo controle \*\*\*  $P < 0,0001$ ; t-teste não pareado.

Em diversos estudos como Silva et al. (2000) foi observado o aumento do número de micronúcleos (MN) e dos níveis de danos ao DNA detectados no Ensaio Cometa de *Ctenomys torquatus* (tuco-tuco) de regiões mineradoras do Estado do RS, quando comparados com regiões sem carvão. Outros estudos no Brasil também demonstram o efeito danoso do carvão em outros organismos, como em moluscos (SOUZA et al., 2015). Em áreas de mineração da Colômbia foram encontrados resultados semelhantes em ratos e camundongos (Leon et al., 2007). Assim como estes trabalhos, muitos outros demonstraram o efeito danoso do carvão e seus derivados em diversas linhagens de células (GRANELLA; CLONFERO, 1992). Estudos como de Rohr et al. (2013) e León-Mejia et al. (2011) apresentaram resultados importantes utilizando testes de genotoxicidade em linfócitos binucleados e em células de mucosa oral de trabalhadores expostos ao carvão, onde se pode observar que indivíduos expostos ao carvão tiveram aumentos significativos no índice de dano avaliado pelo Ensaio Cometa, e na frequência de micronúcleo em Testes de Micronúcleos.

Além de danos reparáveis ao DNA também foram encontrados danos irreparáveis nas células dos indivíduos expostos, como no caso do aumento da frequência de micronúcleos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O carvão mineral apresenta um poder de causar efeitos genotóxicos e mutagênicos nas células do organismo humano. Esta afirmação pode ser justificada comparando os resultados da frequência de micronúcleos e do índice e frequência de danos do grupo exposto em relação ao grupo não exposto.

## REFERÊNCIAS

ANEEL, 2008, **Agencia Nacional de Energia Elétrica Atlas de Energia Elétrica do Brasil 3º Edição**. Brasília.

CELIK, M.; DONBAK, L.; UNAL, F.; YUZBASIOGLU, D.; AKSOY, H.; YILMAZ, S.,

Cytogenetic damage in workers from a coal-fired power plant. **Mutat. Res**, v. 627, p. 158–163. 2007.

DA SILVA, J.; FREITAS, T.R.O; HEUSER, V; MARINHO, J.R; ERDTMANN, B. Genotoxicity biomonitoring in coal regions using wild rodent *Ctenomys torquatus* by Comet assay and micronucleus test. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p. 270-278, 2000.

DUSINSKA, M.; COLLINS, A.R. The comet assay in human biomonitoring: gene-environment interactions. **Mutagenesis**, v. 23, p. 191–205, 2008.

ENERGÉTICA, Brasil. **Balço Energético Nacional**. Ano base 2012. Relatório Final. Empresa de Pesquisa Energética (EPE). Rio de Janeiro: 284. 2013

FENECH, M. Cytokinesis - block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, p. 1084-1104, 2007.

GRANELLA, M ; CLONFERO, E. Sensitivity of different bacterial assays indetecting mutagens in urine of humans exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Mutat Res.**, v. 268, p.131-137. 1992

LEÓN, G; PÉREZ, L.E; LINARES, J.C; HARTMANN A; QUINTANA, M. **Genotoxic effects in wild rodents (*Rattusrattus* and *Musmusculus*) in an open coal mining area**. **Mutat Res**, v. 630, p.42–49, 2007.

LEÓN-MEJÍA, G.; ESPITIA –PÉREZ, L.E.; HOYOS-GIRALDO, L.S.H.; DA SILVA J.;HARTMANN, A.; HENRIQUES, J.A.P. Assessment of DNA damage in coal open-cast mining workers using the cytokinesis-blocked micronucleus test and the comet assay. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 686–691. 2011.

ROHR, P.; DA SILVA, J.; DA SILVA, F.R; SARMENTO, M.; PORTO, P.; DEBASTIANI, R.; DOS SANTOS, C.E.I.; DIAS, J.F.,; KVITKO, K. Evaluations of genetic damage in opens cast coal mine workers using the buccal micronucleus cytome assay. **Environmental and molecular mutgenesis**, v. 54, p.65-71, 2013.

SINGH, R; SRAM, R.J; BINKOVA, B.; KALINA, I; POPOV, T.A.; GEORGIEVA, T.; GARTE, S.; TAIOLI, E.; FARMER, P.B. The relationship between biomarkers of oxidative DNAdamage, polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts, antioxidant status andgenetic susceptibility following exposure to environmental air pollution inhumans. **Mutat. Res**, v. 620, p.. 83–92, 2007.