

Josiane Perin Silveira

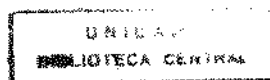
**PARÂMETROS DA RESPOSTA
IMUNOLÓGICA EM INDIVÍDUOS COM
EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A COMPOSTOS
ORGANOCLORADOS**

Orientadora: Dra. Mary Luci Souza Queiroz

Dissertação apresentada ao
Departamento de Farmacologia
da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para
obtenção do título de mestre
em Farmacologia

Campinas

1995



UNIDADE	TBC
N.º CHAMADA	TIUNICAMP
V.	Si 39 p
Ex.	
CLASSE	57/27004
PROG.	667/96
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,55
DATA	13/3/96
N.º CPD	Q.M.00084957 8

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

Si39p Silveira, Josiane Perin
Parâmetros da resposta imunológica em indivíduos com exposição ocupacional a compostos organoclorados / Josiane Perin Silveira.
Campinas, SP : [s.n.], 1995.

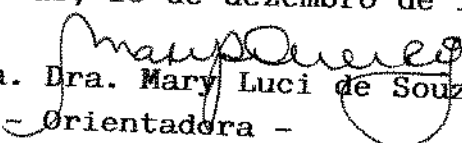
Orientador: Mary Lucy Souza Queiroz

Tese (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Toxicologia industrial. 2. Fagocitose. 3. Imunoglobulinas. I. Queiroz, Mary Luci Souza. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Este exemplar corresponde à versão final da tese de Mestrado, apresentada a Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia da Farmacêutica Bioquímica Josiane Perin Silveira.

Campinas, 15 de dezembro de 1995


Profa. Dra. Mary Luci de Souza Queiroz
- Orientadora -

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Profa. Dra. Mary Luci de Souza Queiroz

Membros:

1. Profa. Dra. Mary L. S. Queiroz *Marys Queiroz*
2. Profa. Dra. Sílvia Bertanga de Moraes Barros *Silvia Barros*
3. Prof. Dr. Carmine Antonio de Souza *Carmine Souza*

Curso de pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

15/12/95

AGRADECIMENTOS

A Prof^a. Dra. Mary Luci de Souza Queiroz, orientadora que possibilitou a oportunidade para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Haroldo Wilson Moreira, pelo apoio, incentivo e amizade.

Ao Prof. Dr. Cármino A. Souza e a Dra. Lia G. S. Augusto pela coordenação geral do projeto e encaminhamento dos trabalhadores para a UNICAMP.

Ao Dr. Milton A. Ruiz, pela avaliação clínica e coordenação do estudo de função hepática dos trabalhadores.

A Dra. Heloísa H. B. de Toledo, pela determinação dos níveis sangüíneos de HCB dos trabalhadores.

Ao Departamento de Farmacologia da FCM - UNICAMP.

Ao Hemocentro da UNICAMP, pelo apoio financeiro.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pelo apoio financeiro.

Aos trabalhadores, sem os quais, não realizaríamos este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Cultura de Células do HEMOCENTRO da UNICAMP.

Aos profissionais do apoio didático do HEMOCENTRO da UNICAMP.

A muitos outros profissionais que me ajudaram neste trabalho e não estão aqui citados.

SUMÁRIO

I.	Resumo	1
II.	Introdução	3
III.	Objetivos	8
IV.	Casuística e Métodos	10
V.	Resultados.....	24
VI.	Discussão.....	44
VII.	Conclusão.....	59
VIII.	Summary.....	61
IX.	Referências Bibliográficas	63
X.	Apêndice	71

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

I. Figuras

Figura 1.....	29
Figura 2.....	30
Figura 3.....	31
Figura 4.....	32
Figura 5.....	33
Figura 6.....	34
Figura 7.....	35
Figura 8.....	36
Figura 9.....	37
Figura 10.....	38
Figura 11.....	39
Figura 12.....	40
Figura 13.....	41
Figura 14.....	42
Figura 15.....	43
Figura 16.....	52

Gráficos

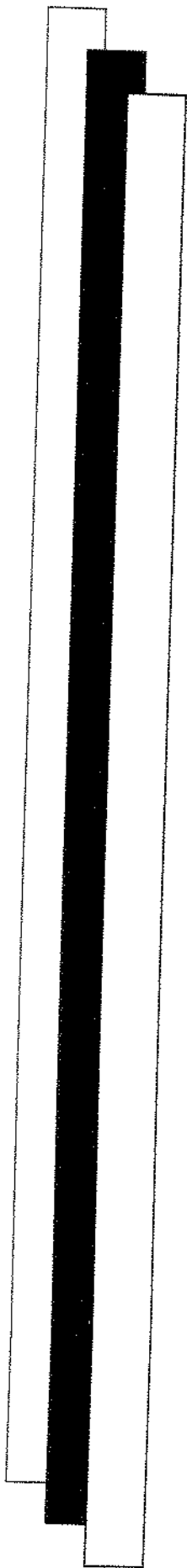
Tabela 1.....	72
Tabela 2.....	75
Tabela 3.....	76
Tabela 4.....	78
Tabela 5.....	80
Tabela 6.....	82

Fotos

Fotos 1 e 2.....	50
Fotos 3 e 4.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BCDF	Fator com atividade de induzir a diferenciação celular até plasmócito
BGDF	Fator de indução a proliferação e diferenciação final
BSF1	Fator com atividade de induzir a proliferação
CCl₄	Tetracloreto de carbono
DPC	Difenilpoliclorados
GGT	Gamaglutamiltransferase
GSH	Glutathiona reduzida
GSSG	Glutathiona oxidada
HCB	Hexaclorobenzeno
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LDH	Desidrogenase láctica
MDH	Desidrogenase málica
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NBT	Nitroblue tetrazolium
PER	Percloroetileno
TCDD	Tetraclorodibenzodioxina
TCDF	Tetraclorodibenzofurano



I. Resumo

Este trabalho faz parte de um projeto maior intitulado "Projeto Integrado de Estudo da Hemotoxicidade do Benzeno e Pesticidas", um estudo multidisciplinar que visa uma avaliação sistêmica de funcionários e ex-funcionários das Empresas Químicas e Siderúrgicas de Cubatão, São Paulo, Brasil.

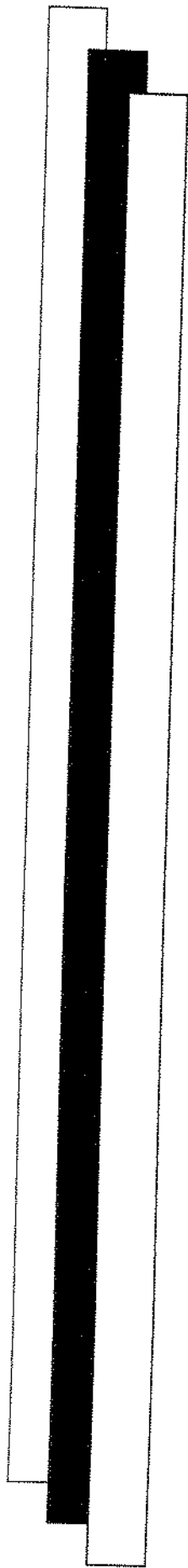
Estudamos um grupo de trabalhadores expostos aos compostos organoclorados. Avaliamos a imunidade inespecífica através da atividade fagocitária e lítica de neutrófilos e a imunidade humoral através dos níveis séricos das imunoglobulinas. A função hepática e a dosagem dos níveis sanguíneos de hexaclorobenzeno (HCB) foram realizadas por um outro grupo dentro deste projeto.

Todos os indivíduos avaliados apresentaram níveis detectáveis de HCB no sangue, sendo que este foi utilizado como o indicador biológico de exposição.

Nossos resultados demonstraram redução significativa na atividade lítica de neutrófilos frente aos antígenos *Candida albicans* e *Candida pseudotropicalis*. Este fato pode estar relacionado a um desequilíbrio nos mecanismos anti-oxidantes da célula provocada pelos compostos organoclorados, levando a uma condição tóxica e consequente redução na atividade funcional da mesma.

Observamos também, um aumento nos níveis séricos de IgG e IgM que foi associada com a alteração hepática destes trabalhadores.

Estes resultados indicaram que o estudo da função lítica de neutrófilos e os níveis séricos das imunoglobulinas, contituem indicadores sensíveis de efeitos tóxicos dos compostos organoclorados na população exposta.



II. Introdução

Os compostos organoclorados apresentam uma variedade de efeitos tóxicos que incluem hepatotoxicidade, teratogenicidade e carcinogenicidade, neurotoxicidade e imunotoxicidade. O grau de toxicidade depende principalmente do conteúdo e posição dos átomos de cloro na molécula (SAFE, 1994; ESPOSITO, TIERNAN & DRYDEN, 1980). Os efeitos imunotóxicos destes compostos foram estudados quase que exclusivamente *in vitro* e *in vivo* em animais de experimentação, e incluem o tetraclorodibenzodioxina (TCDD), o tetraclorodibenzofurano (TCDF), os difenil policlorados (DPC) e o hexaclorobenzeno (HCB). Destes, o TCDD foi o mais extensivamente estudado do ponto de vista imunológico.

O TCDD e outros hidrocarbonetos aromáticos halogenados como o TCDF, produzem um padrão de resposta tóxica através da indução de várias enzimas, inclusive a aril hidrocarboneto hidroxilase. Esta enzima está intimamente ligada a caracterização de população susceptível a indução de mutagenicidade e carcinogênese. Assim, fumantes e pacientes pertencentes a grupos genéticos para desenvolvimento de câncer de pulmão possuem alta indução desta enzima. Estes hidrocarbonetos se ligam de forma reversível e com grande afinidade a uma proteína citosólica (dioxina ou receptor Ah) e esta interação irá mediar os efeitos tóxicos destas substâncias. Este receptor para o TCDD foi também encontrado em hepatócitos (POLAND, GLOVER & KENDE, 1976). O complexo composto-receptor atravessa a membrana nuclear e se liga ao DNA (GREENLE & POLAND, 1979) resultando em maior expressão das enzimas.

Estudos *in vitro* demonstraram redução na resposta linfoproliferativa em presença de mitógenos (FAITH, LUSTER & MOORE, 1978) e redução na produção de linfócitos T citotóxicos (CLARK et al, 1981). O sistema imune em desenvolvimento parece

ser o mais sensível aos efeitos tóxicos do TCDD (CLARK et al, 1981; FAITH, & MOORE, 1977).

Em estudos experimentais observou-se que o efeito imunotóxico mais consistente do TCDD e compostos relacionados é a involução e atrofia tímica. Estas alterações são mais pronunciadas no córtex da glândula e estão associadas a depleção de linfócitos (VOS, FAITH & LUSTER, 1980). A depleção de áreas T-dependentes ocorrem também no baço e nódulos linfáticos. (CLARK et al, 1981, VOS, MOORE & ZINKL, 1974). Várias alterações na resposta imune celular foram observadas incluindo depressão na reação cutânea de hipersensibilidade do tipo tardio, redução na capacidade de rejeitar enxertos de pele e aumento de susceptibilidade a agentes infecciosos (FAITH & LUSTER, 1979).

A resposta imune humoral também é deprimida em animais tratados com TCDD, embora para a ocorrência dessa depressão sejam necessárias maiores doses do composto, se comparado com a depressão da resposta imune celular (VOS, FAITH & LUSTER, 1980). O TCDD interfere no processo de maturação do linfócito B (LUSTER, GEMOLEC & ROSENTHAL, 1988) e leva a redução nos níveis das imunoglobulinas séricas (CLARK et al, 1981).

Portanto, os efeitos imunotóxicos de compostos da família do TCDD incluem supressão da resposta imune celular e humoral e causam efeitos carcinogênicos e teratogênicos.

O outro grupo de compostos organoclorados que foram investigados foram os difenilpoliclorados (DPC), cujo efeitos imunotóxicos são semelhantes aos observados com o TCDD. Em animais os DPC além de serem carcinogênicos (KIMBROUGH et al, 1975), induzem a atrofia cortical do timo, redução no número de centros germinativos no baço e nódulos linfáticos, bem como no número de linfócitos circulantes. A resposta imune humoral também é

deprimida em animais tratados com DPC (THOMAS & HINDSDILL, 1978; KOLLER & THIGPEN, 1973).

Um outro composto organoclorado com efeitos imunotóxicos documentados em modelos experimentais é o hexaclorobenzeno (HCB).

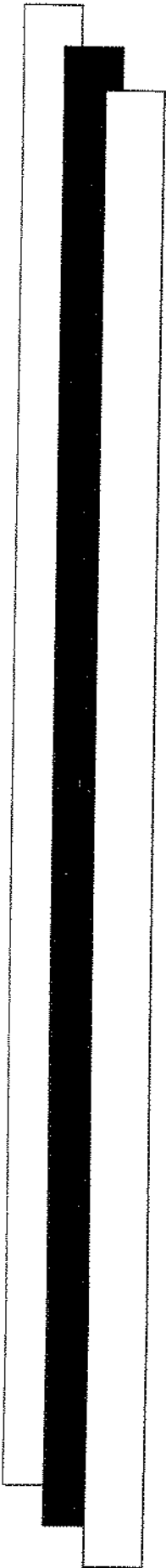
Este composto, além de potente carcinogênico (SMITH & CABRAL, 1980), afeta tanto a resposta imune humoral quanto a celular em camundongo adulto (LOOSE et al, 1978). A produção de células formadoras de anticorpos está deprimida, assim como a hipersensibilidade do tipo tardio, a resposta mista de linfócitos e a resposta mitogênica de células T e B. Os efeitos imunomoduladores do HCB variam com a espécie estudada, sendo que apesar do HCB deprimir a resposta humoral em camundongos, ele aumenta esta resposta frente à toxina tetânica em ratos (VOS et al, 1979). A exposição de camundongos da linhagem Balb/c ao HCB durante a gestação resulta na depressão da resposta do tipo tardio ao oxazolona (BARNETT et al, 1987). Aumento significativo na distribuição relativa de células T esplênicas (aumento nas células T supressoras e diminuição nas células T auxiliar) e uma diminuição nas células B esplênicas foram relatadas em fêmeas de camundongos tratadas com HCB (SABOORI & NEWCOMBE, 1992).

São poucos os estudos sobre as alterações imunológicas que podem ocorrer em indivíduos expostos aos compostos organoclorados. Redução nos níveis séricos de imunoglobulinas M e A foi observada em indivíduos expostos aos DPC (CHANG et al, 1981). Em outro estudo realizado em 1971 com 154 indivíduos residentes em Missouri (EUA), em uma área cujo solo havia sido contaminado com TCDD demonstrou que as porcentagens de linfócitos T auxiliares e T supressores estavam reduzidas na população exposta (HOFFMAN et al, 1986). A utilização inadequada

do HCB na Turquia, entre os anos de 1955 e 1959, provocou uma intoxicação em massa da população resultando em aproximadamente 3000 casos de porfiria com taxa de mortalidade de 10% (PETERS, 1976). Infelizmente, os parâmetros imunológicos não foram estudados nesta ocasião e portanto não podemos associar a porfiria tóxica com a disfunção imune (SABOORI & NEWCOMBE, 1992).

Neste trabalho vamos investigar um grupo de indivíduos com exposição ocupacional a vários compostos organoclorados onde predominam o HCB, o percloroetileno (PER) e o tetracloreto de carbono (CCl_4). Embora os efeitos hepatotóxicos, nefrotóxicos e sobre o sistema nervoso central do PER e CCl_4 sejam bem documentados (CORNISH, 1971; DE GROTT & HAAS, 1981) não encontramos na literatura estudos sobre os possíveis efeitos imunotóxicos destes compostos no homem.

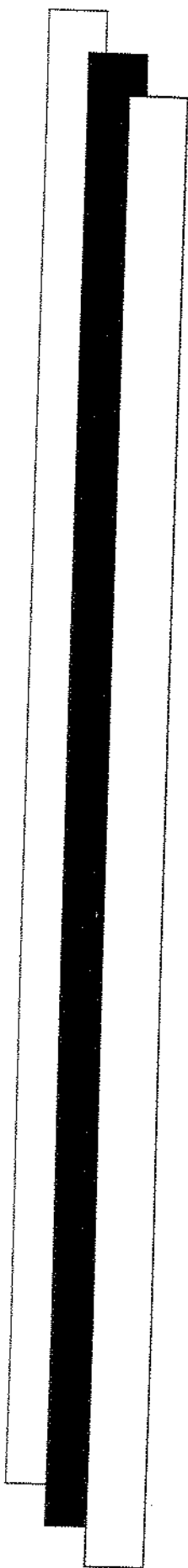
Os parâmetros imunológicos investigados neste trabalho são a capacidade fagocitária e lítica dos neutrófilos destes indivíduos e os níveis séricos de imunoglobulinas G, M e A. Trabalhos realizados em nosso laboratório demonstraram que a atividade lítica de neutrófilos, assim como a determinação dos níveis séricos de imunoglobulinas são um indicador sensível de toxicidade em indivíduos expostos à agentes tóxicos como o mercúrio (PERLINGEIRO & QUEIROZ, 1994; QUEIROZ et al, 1994 a) e o chumbo (QUEIROZ et al, 1994 b; QUEIROZ et al, 1994 c) mesmo quando esta exposição ocorre em presença de concentrações consideradas biologicamente seguras no campo profissional.



III. Objetivos

Este trabalho faz parte do "Projeto Integrado de Estudo da Hemotoxicidade do Benzeno e Pesticidas", um estudo multidisciplinar, que visa uma avaliação sistêmica de funcionários e ex-funcionários das Empresas Químicas e Siderúrgicas de Cubatão, São Paulo.

Neste trabalho, estudamos a atividade fagocitária e lítica de neutrófilos frente aos antígenos *Candida albicans* e *Candida pseudotropicalis* e os níveis séricos das imunoglobulinas em indivíduos com exposição crônica a compostos organoclorados. Nosso objetivo foi avaliar os efeitos imunotóxicos e identificar indicadores sensíveis de efeito, após exposição a estes compostos.

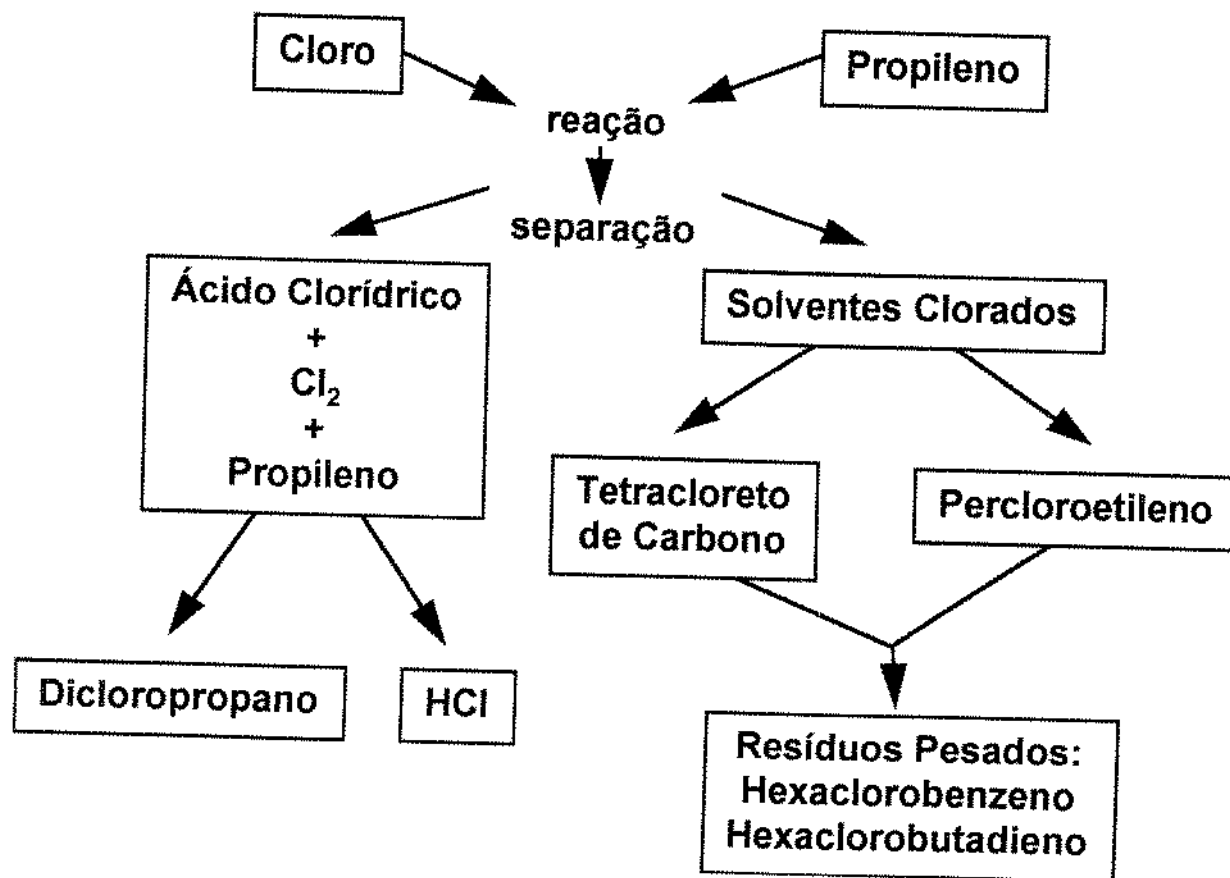


IV. Casuística e Métodos

1.Casuística

Foram estudados sessenta e nove (69) funcionários da Usina Química de Cubatão da Empresa Rhodia. Esta usina, que desde junho de 1993 está fechada por decisão judicial, produzia Tetracloreto de carbono, Percloroetileno e Ácido clorídrico. Em decorrência do processo industrial adotado era gerada uma mistura de diversos resíduos sólidos tais como: o hexaclorobenzeno, o hexaclorobutadieno, o pentaclorobenzeno, o tetraclorobenzeno e o hexacloroetano.

O processo de produção nesta Usina poderia ser esquematizado como a seguir :



O HCB foi utilizado como o indicador biológico de exposição aos resíduos dos compostos organoclorados, por ser muito estável no meio ambiente e nos tecidos orgânicos ricos em gordura.

Em 1993, após o fechamento desta empresa, iniciou-se nosso estudo. Dos sessenta e nove (69) indivíduos estudados, todos do sexo masculino, catorze (14) estavam afastados neste período. Todos apresentaram níveis detectáveis de HCB no sangue. Em dezoito (18) familiares voluntários, oito (8) apresentaram "traços" de HCB bem abaixo do grupo exposto e, em dez (10) não foram detectados níveis de HCB no sangue.

Os pacientes foram avaliados clinicamente através de anamnese completa, exame físico e diversos exames laboratoriais definidos no protocolo de estudo. Quando os pacientes apresentavam história ou exame físico sugestivo de hepatopatia e ou esplenomegalia, os mesmos eram submetidos à estudo ultrassonográfico de abdome e eventualmente à biópsia hepática. As manifestações clínicas mais freqüentes foram dermatopatias do tipo cloroacnes e alterações neuropsiquiátricas como dificuldade de memorização, astenia, fadiga fácil e esquecimento constante. Além disso cinco trabalhadores apresentaram esteatose hepática e quatro esplenomegalia.

O grupo controle foi constituído de doadores de sangue do Hemocentro da UNICAMP, também do sexo masculino, clinicamente normais e sem história de exposição à estes compostos organoclorados, ou a qualquer outro produto químico terapêutico ou não.

2. Métodos

2.1. Determinação de resíduo de hexaclorobenzeno no sangue

A determinação de presença de HCB no sangue foi realizada no Instituto Adolfo Lutz, na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais através do método de Dale e colaboradores, 1966.

2.1.1. Descrição da Técnica

Em um tubo de vidro pipetar 1,0 mL de soro e adicionar 5,0 mL de hexano. Agitar por um minuto em agitador e retirar a camada hexânica com pipeta Pasteur, passando para um segundo tubo de vidro graduado de 10,0 mL. Reextrair o soro com mais 5,0 mL de hexano, retirar a camada hexânica e reunir ao segundo tubo. Concentrar com corrente de nitrogênio, ajustando o volume final de acordo com a concentração do resíduo. Injetar 5,0 μ L no cromatógrafo.

Para a cromatografia é utilizado o cromatógrafo CG 90 com detector de captura de elétrons com fonte de níquel com coluna de vidro espiralada de 1/8 de polegada de diâmetro interno e 6 pés de comprimento com a fase estacionária 1,5 % de OV 210 em Chrom Q II 100-120 mesh.

São utilizadas as seguintes condições:

Temperatura da coluna: 208°C

Temperatura do injetor: 240°C

Temperatura do detector: 260°C

Fluxo de nitrogênio: 40 ml/min

Para a avaliação da metodologia é adicionada a uma amostra isenta de HCB 1,0 mL de uma solução de HCB a 0,5 ng/mL. A recuperação deve estar acima de 90%.

O limite de sensibilidade do método é de 0,02 µg/dL de HCB.

Foram analisadas dez (10) amostras de sangue de moradores de Itanhaem não expostos (controles), onde não foi encontrado resíduo de HCB no limite de determinação.

2.2. Determinação da atividade fagocitária e lítica de neutrófilos frente aos antígenos *Candida albicans* e *Candida pseudotropicalis*

O sistema fagocitário, desempenha um papel fundamental nos mecanismos de primeira linha de defesa do organismo contra os agentes infecciosos.

A capacidade dos leucócitos em fagocitar microorganismos, pode ser detectada através da incubação *in vitro* de neutrófilos com uma suspensão celular de leveduras, para que ocorra a fagocitose e conseqüente lise celular (BALLART et al, 1987).

2.2.1. Técnica

Colocar 2,0 mL de sangue periférico coletado sem anticoagulante diretamente sobre duas lâminas de bordas esmaltadas e incubar em câmara úmida por duas horas a 37°C. Preparar uma suspensão de *Candida Albicans* e outra de *Candida pseudotropicalis* em meio Eagle. Lavar as suspensões duas vezes em meio Eagle desprezando o sobrenadante. Ressuspender o precipitado em meio Eagle deixando-o na concentração de 5×10^6 /mL.

Opsonizar as leveduras em meio Eagle com 10 % de soro humano normal tipo AB.

Desprezar com cuidado o coágulo das lâminas incubadas, lavá-las com meio Eagle. Distribuir 1,0 mL das suspensões de leveduras sobre as lâminas e incubar por 30 minutos a 37°C.

Após este tempo lavar as lâminas em meio Eagle. Deixá-las secar e corá-las com Giemsa.

Realizar a leitura das lâminas ao microscópio com objetiva de imersão contando o número de leveduras fagocitadas e lisadas no total de 100 neutrófilos (BALLART et al, 1987).

De acordo com os nossos controles (n=66), estabelecemos valores de referência para a fagocitose de 182,3 a 313,9 ($X=248,1 \pm 65,8$) e para lise de 18,6 a 40,8 % ($X=29,7 \pm 11,1$) frente a *Candida albicans*; e de fagocitose de 151,8 a 313,6 ($X=232,7 \pm 80,9$) e de lise de 12,3 a 26,1 % ($X=19,4 \pm 6,7$) frente a *Candida pseudotropicalis*.

2.3. Determinação das Imunoglobulinas G, M e A:

A concentração sérica das imunoglobulinas foi determinada pela técnica de imunodifusão radial simples de acordo com Mancini et al (1964).

2.3.1. Técnica

De acordo com esta técnica quando temos um anticorpo específico para determinado antígeno incorporado ao gel, distribuído sobre lâmina de ágar ou disco de Petri e em posições adequadas do gel são feitos orifícios, que são preenchidos com os antígenos em concentrações padronizadas e outros com o antígeno de concentração desconhecida. Há a difusão radial à partir do orifício e, quando todo o antígeno estiver difundido verifica-se a opacificação em forma circular em torno do orifício. Pelo menos três padrões com concentrações diferentes conhecidas das respectivas imunoglobulinas foram utilizadas para cada determinação.

Procede-se, após o término da difusão, à leitura dos diâmetros correspondentes aos halos de precipitação dos padrões e dos desconhecidos e traça-se uma reta lançando-se em ordenadas as concentrações dos padrões contra o quadrado dos diâmetros dos respectivos halos de precipitação. Lê-se a concentração do desconhecido, à partir do quadrado do diâmetro, sobre a reta, a qual deve ser estabelecida para cada experimento.

Para esta determinação, utilizamos o soro de 56 trabalhadores com exposição ocupacional a compostos organoclorados e o kit comercial da BEHRING® para as respectivas Imunoglobulinas.

Os nossos valores de referência, de acordo com os controles (n=30) foram 952 - 1538 mg/dl ($X=1245 \pm 293$) para IgG; 73

- 171 mg/dl ($X=122\pm49$) para IgM e 153 - 359 mg/dl ($X=256\pm103$) para IgA.

2.4. Determinação da função hepática

O fígado é um órgão complexo que desempenha muitas funções metabólicas.

Uma importante função é remover do sangue as substâncias potencialmente nocivas, endógenas ou exógenas e, excretá-las para a biliar. Pode ainda, convertê-las em produtos adequados para serem excretados pelo rim e pulmão.

2.4.1. Descrições das Técnicas

Os indicadores de função hepática abaixo mencionados foram determinados através de exame clínico, laboratorial e, se necessário, ultrassonográfico realizado na Disciplina de Hematologia da Faculdade de Santos.

a) Determinação da bilirrubina total e frações

A bilirrubina foi pela primeira vez identificada no soro por Van den Bergh e Müller. Estes autores verificaram que a bilirrubina do soro reagia com o diazo-reagente de Ehrlich (ácido sulfanílico diazotizado), apenas quando se adicionava álcool. A observação de que o pigmento biliar contido na bile humana reagia com o diazo-reagente, sem a adição de álcool, foi denominada de bilirrubina direta (conjugada) e a variedade que reage apenas na presença de álcool, bilirrubina indireta (não conjugada).

A análise quantitativa das bilirrubinas séricas, distinguindo-se os tipos direto e indireto segundo Van den Bergh, há muito foi substituída pelo doseamento da bilirrubina total e da direta, presumindo-se que a diferença dos dois valores corresponda à bilirrubina indireta.

Em 99% dos indivíduos normais o valor da bilirrubina sérica total é inferior a 1,0 mg/dl. Esta bilirrubina é quase totalmente não conjugada. Uma porção de até 20% da bilirrubina conjugada, contudo, pode reagir com o reagente de Van den Bergh, simulando a existência de 0,2 mg/dl de bilirrubina conjugada no plasma normal (DESMOND BURKE, 1975).

A bilirrubina total (conjugada e não conjugada) e a direta (conjugada), foram dosadas utilizando-se o método do ácido sulfanílico diazotado. Ambas as bilirrubinas reagem em sua presença, para formar um azo composto de cor azul, com a participação de aceleradores para a reação da bilirrubina total.

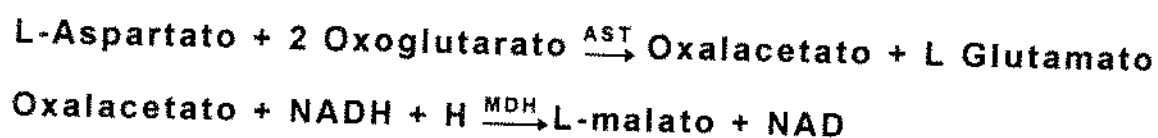
A bilirrubina indireta (não conjugada), foi obtida através da subtração da bilirrubina direta da total.

O material utilizado foi soro de sessenta e dois (62) trabalhadores expostos ocupacionalmente a compostos organoclorados, utilizando o kit comercial da "AMES".

O valor de referência utilizado para bilirrubina direta foi de 0,2 mg/dl, para a bilirrubina total de 1,0 mg/dl e para a bilirrubina indireta de 0,8 mg/dl.

b) Determinação da atividade da aspartato aminotransferase (AST)

Foi baseada no seguinte esquema reacional:



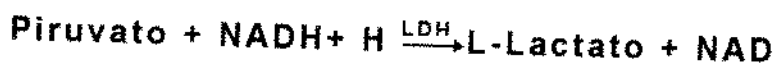
A reação principal, catalisada pela AST, está deslocada para a formação de oxalacetato, que reage imediatamente com a desidrogenase málica (MDH), de modo que a velocidade de oxidação do NADH, medida a 340 nm a 25°C é proporcional a atividade de AST na amostra.

Para esta determinação utilizamos soro de sessenta e um (61) trabalhadores expostos ocupacionalmente a compostos organoclorados, utilizando o kit comercial da "Roche".

Utilizamos como valores de referência aquele apresentado pelo fabricante de até 15 U/L.

c) Determinação da atividade da alanina aminotransferase (ALT)

Foi baseada no seguinte esquema reacional:



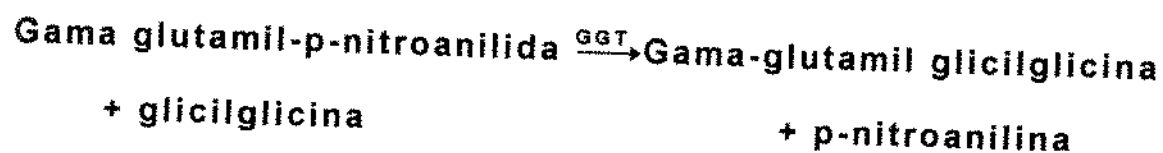
A reação principal, catalisada pela ALT, está deslocada para a formação de piruvato, que reage imediatamente com a desidrogenase láctica (LDH), de modo que a velocidade de oxidação do NADH, medida a 340 nm a 25°C é proporcional à atividade de ALT na amostra.

Para esta determinação foi utilizado soro de sessenta e um (61) trabalhadores expostos ocupacionalmente a compostos organoclorados, utilizando o kit comercial da "Roche".

Utilizamos como valores de referência aquele fornecido pelo fabricante de 17 U/L.

d) Determinação da gama glutamil transferase (GGT)

A enzima GGT é uma carboxipeptidase que cataliza a transferência do grupo gama-glutamil desde a gama-glutamil-paranitroanilida (substrato), à molécula de glicilglicina (acceptor) liberando a p-nitroanilina em quantidade equimoleculares, de acordo com a equação:



Nas condições da reação, a quantidade de p-nitroanilina liberada é proporcional à atividade GGT do soro.

A atividade enzimática é avaliada pela medida da velocidade de aparição da cor amarela da p-nitroanilina a 405 nm a 25°C.

Para esta determinação foi utilizado soro de sessenta e um (61) trabalhadores expostos ocupacionalmente a compostos organoclorados, utilizando o kit comercial da "CELM".

Utilizamos como valores de referência os fornecidos pelo fabricante de 6 a 28 U/L.

e) Determinação da fosfatase alcalina (ALP)

As diferentes formas isoméricas da fosfatase alcalina hidrolizam os ésteres monofosfóricos formando um fosfato e um fenol, como demonstra a reação abaixo:

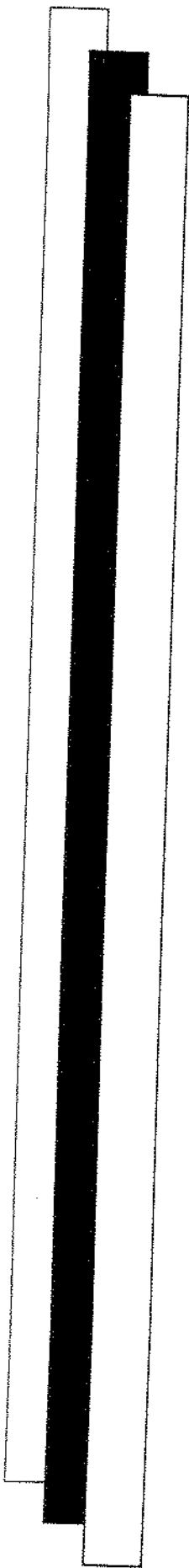


A velocidade de formação de 4-nitrofenol é diretamente proporcional à atividade da fosfatase alcalina e é medida fotometricamente em 405 nm a 25°C.

Para esta determinação foi utilizado soro de sessenta e um (61) trabalhadores expostos a compostos organoclorados, utilizando o kit comercial da "AMES". Utilizamos como valor de referência aquele fornecido pelo fabricante de até 160 U/L.

3. Análise Estatística

A avaliação estatística dos resultados foi realizada empregando-se o teste t de Student.



V. Resultados

1. Dosagem dos níveis de HCB em sangue

Os sessenta e nove (69) trabalhadores expostos apresentaram níveis detectáveis de HCB sangüíneos. A média de idade do grupo estudado foi de trinta e oito (38) anos e desvio padrão de oito (8) anos, a média de teores de HCB sangüíneo de 3.5 µg/dl e desvio padrão de 2,5 µg/dL e o tempo médio de exposição de 9,8 anos e desvio padrão de 5,8 anos. (tabela 1).

Destes sessenta e nove (69) indivíduos avaliados, catorze (14) são ex-funcionários. A tabela 2, mostra a distribuição destes casos, segundo o tempo e motivo de afastamento, tempo de trabalho e níveis séricos de HCB. Observamos que, neste grupo, o tempo médio de afastamento variou de 1 a 7 anos, a média foi de 2,8 anos e o desvio padrão de 1,6; o tempo de trabalho variou de 4 a 22 anos, a média foi de 12,7 anos e o desvio padrão de 6,0 anos; o nível sérico de HCB variou de 1,2 a 7,3 µg/dL, a média foi de 3,7 µg/dL e o desvio padrão de 2,1 µg/dL.

Não houve correlação entre o tempo de afastamento e a concentração de HCB sangüínea.

Em dez (10) familiares voluntários, destes trabalhadores, não foram detectados níveis sangüíneos de HCB no limite de sensibilidade do método para determinação do HCB sangüíneo, ou seja, 0,02 µg/dl.

Ainda não foi fixado um valor limite de tolerância biológico para o HCB (BASELT & CRAVEY, 1990).

2. Atividade fagocitária e lítica de neutrófilos

Foi avaliada a atividade fagocitária e lítica de neutrófilos frente à *Candida albicans* (n=66) e à *Candida pseudotropicalis* (n=69) em indivíduos expostos a compostos organoclorados.

2.1. Atividade fagocitária e lítica frente à *Candida albicans*

Os resultados da atividade fagocitária e lítica ao antígeno *Candida albicans* estão apresentados na tabela 3.

Observamos que a capacidade fagocitária se mostrou semelhante aos controles sem história de exposição (figura 1).

A atividade lítica, no entanto, mostrou-se significativamente reduzida ($p < 0.01$), aproximadamente 80%, quando comparada aos controles (figura 2).

2.2. Atividade fagocitária e lítica frente à *Candida pseudotropicalis*

Os resultados da atividade fagocitária e lítica frente ao antígeno *Candida pseudotropicalis* estão apresentados na tabela 3.

Como no caso anterior aqui também observamos que não houve alteração na capacidade fagocitária, em relação aos controles (figura 3). Por outro lado, a atividade lítica mostrou-se significativamente reduzida ($p < 0.01$), aproximadamente 80% em comparação com os controles (figura 4).

3. Avaliação das Imunoglobulinas

Os níveis de IgG, IgM, IgA foram avaliados em cinquenta e seis (56) trabalhadores expostos frente a controles (n=30) sem história de exposição (tabela 5).

Observamos um aumento significativo de IgG ($p < 0,05$) e IgM ($p < 0,01$), frente aos controles. Por outro lado, os níveis de IgA não estavam alterados ($p > 0,05$). Estes resultados estão representados na figura 5.

Embora não tenha havido correlação entre os níveis de imunoglobulinas e idade e níveis de HCB no sangue, foi observada uma correlação linear entre o tempo de exposição ao HCB e o aumento dos níveis séricos de IgM ($r=0,3668$ e intervalo de confiança de 0,103 a 0,583) (figura 6).

4. Avaliação da função hepática

Foram avaliados em sessenta e um (61) trabalhadores expostos os níveis de Bilirrubinas total e frações, AST, ALT, GGT, ALP (tabela 6).

Destes, sete (7) deles possuíam a bilirrubina direta e a bilirrubina total aumentadas. Em dois (2) trabalhadores, a bilirrubina indireta também estava alterada (figuras 7, 8, 9).

Em doze (12) trabalhadores a transaminase AST estava aumentada, em quatro (4) moderadamente aumentada e em oito (8) discretamente aumentada (figura 10). Em vinte e quatro (24) trabalhadores a transaminase ALT estava aumentada, em três (3) trabalhadores acentuadamente aumentada, em três (3) trabalhadores moderadamente aumentada e em dezoito (18) trabalhadores discretamente aumentada (figura 11).

Apenas dois (2) trabalhadores apresentaram aumento de GGT no soro (figura 12).

Não houve aumento da ALP (figura 13).

Uma correlação linear foi observada entre o aumento da IgM e AST, onde $r=0,3618$ e intervalo de confiança=0,057 a 0,605 (figura 14) e entre os níveis de IgM e de ALT, onde $r=0,5066$ e intervalo de confiança=0,232 a 0,706 (figura 15).

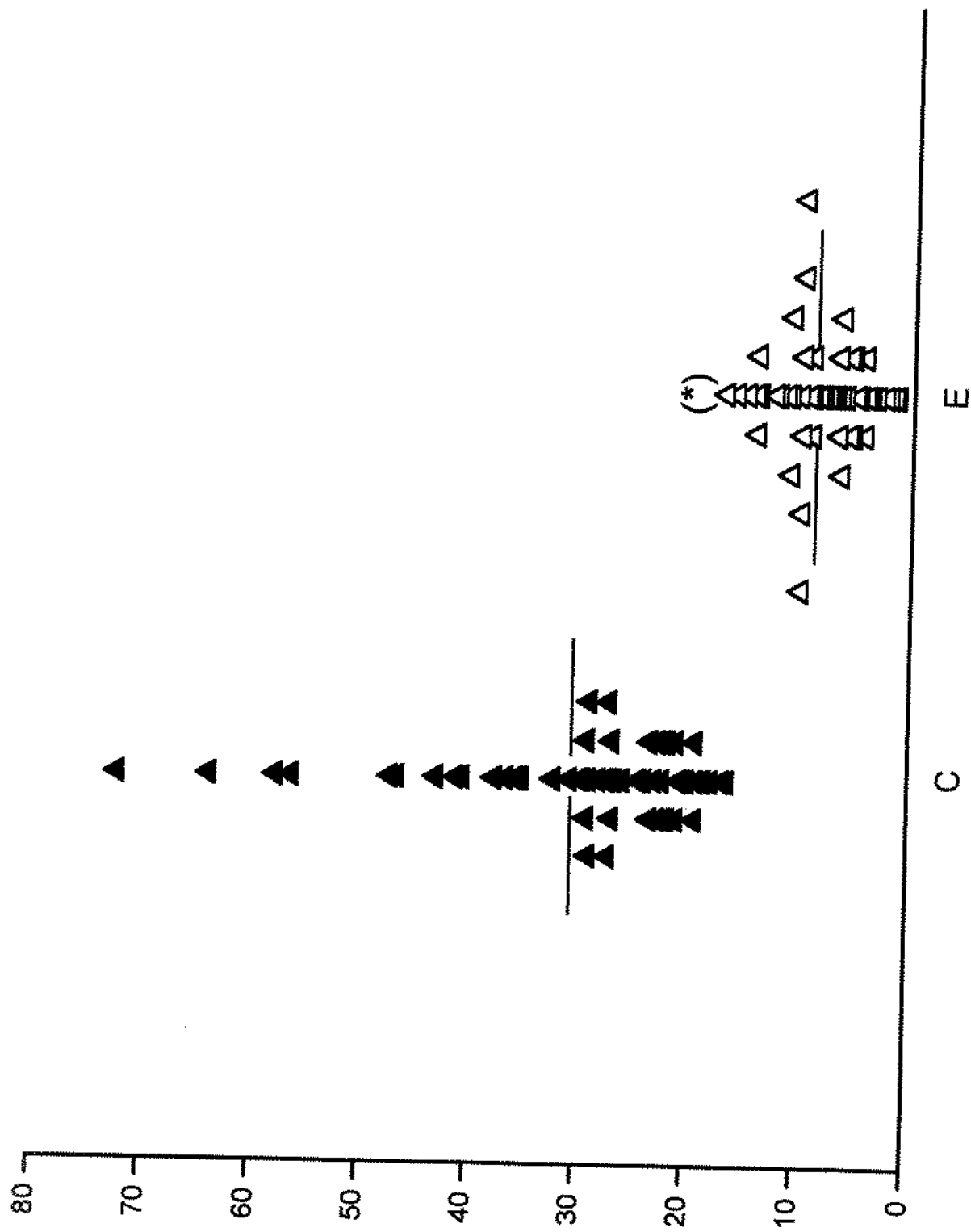


Figura 2. Atividade lítica de neutrófilos de trabalhadores expostos a compostos clorados (E) e controles (C) frente ao antígeno *Candida albicans* (n = 66)
 (*) $p < 0,01$ Teste t de Student

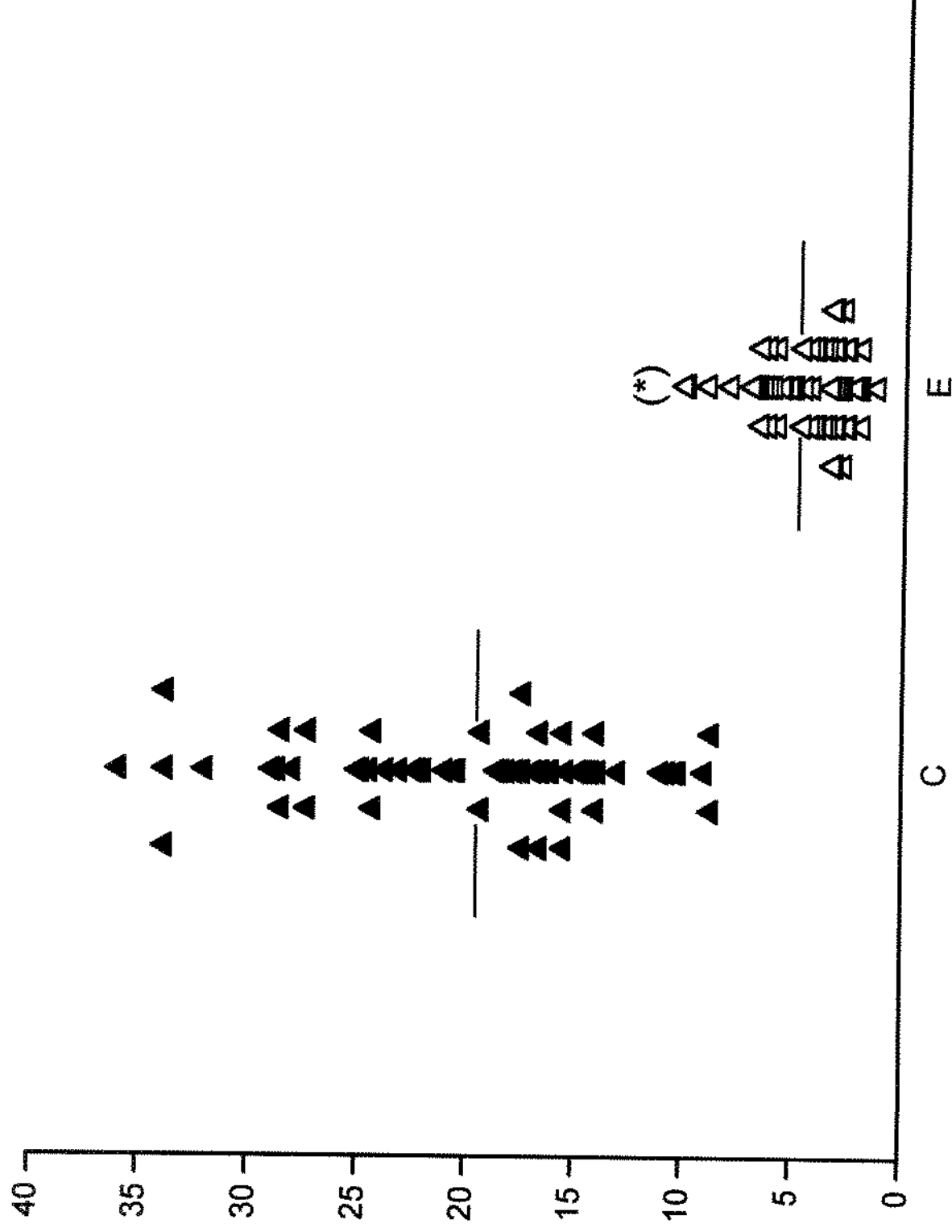


Figura 4. Atividade lítica de neutrófilos de trabalhadores expostos a compostos clorados (E) e controles (C) frente ao antígeno *Candida pseudotropicalis* (n = 69)
(*) p < 0,01 Teste t de Student

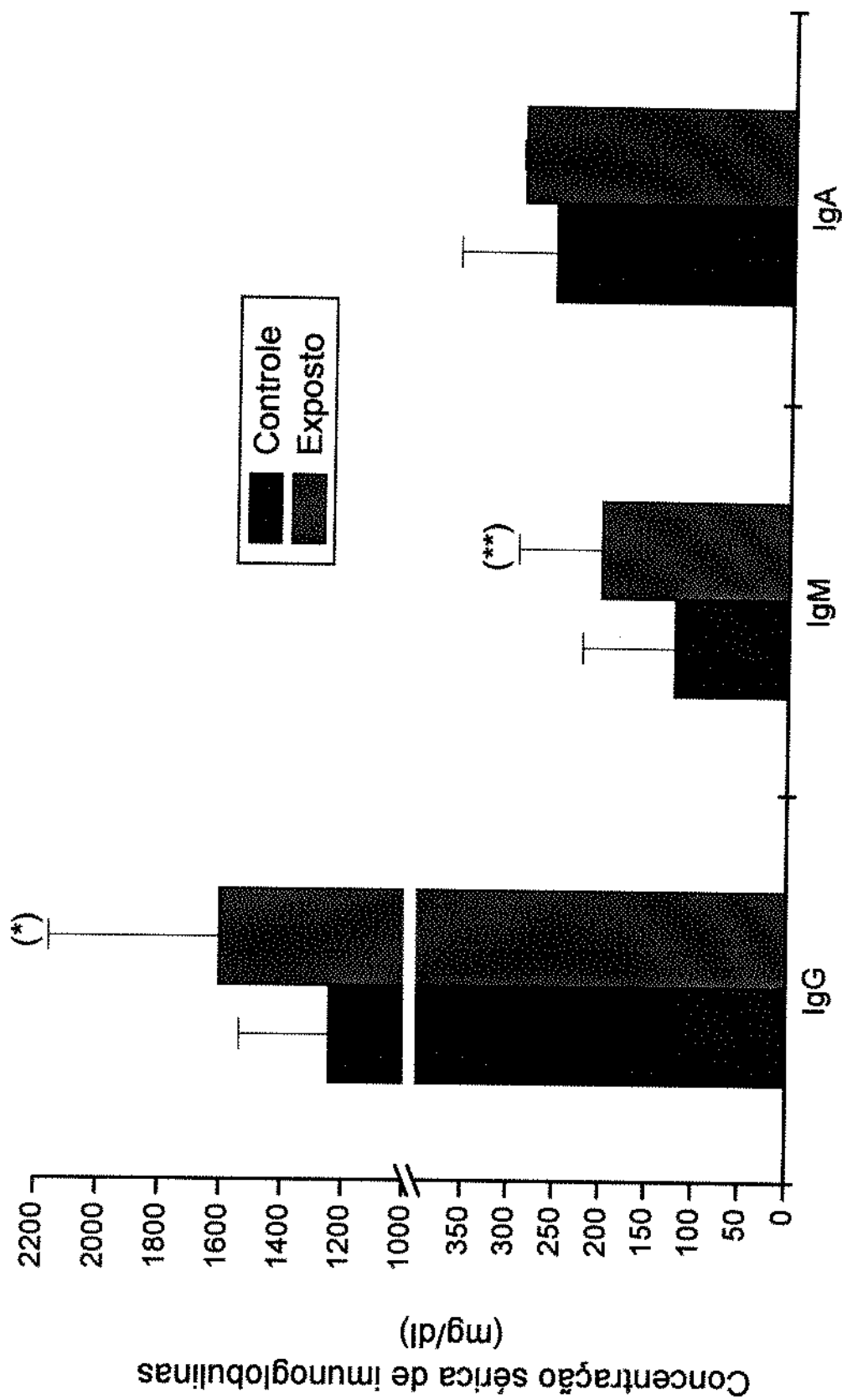


Figura 5. Concentração sérica de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA) em trabalhadores expostos a compostos clorados e controles (n = 53)

(*) $p < 0,05$ (**) $p < 0,01$ Teste t de Student

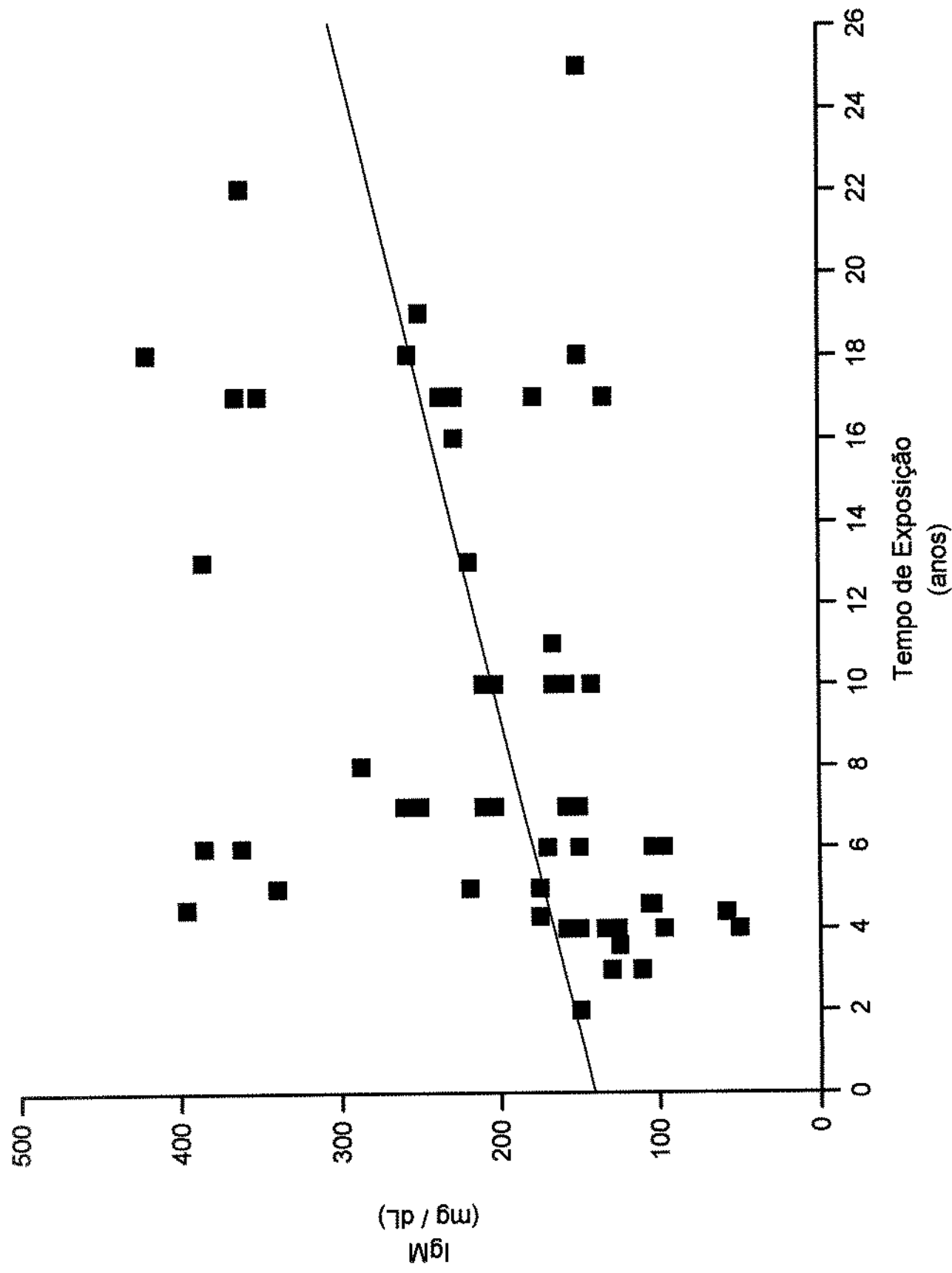


Figura 6. Correlação entre os níveis séricos de IgM e tempo de exposição a compostos clorados
($r = 0,3668$)

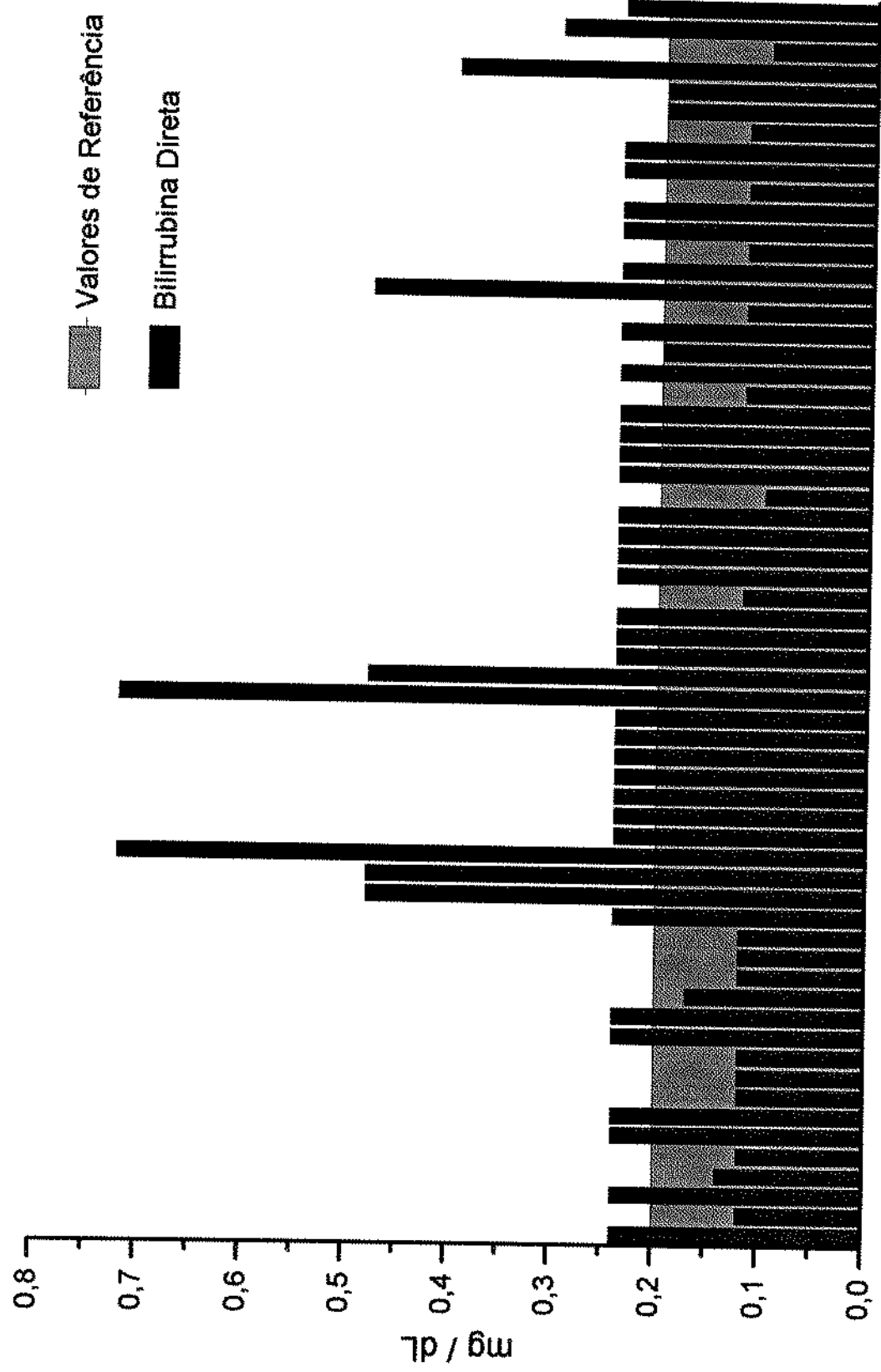


Figura 7. Níveis de bilirrubina direta em trabalhadores expostos a compostos clorados

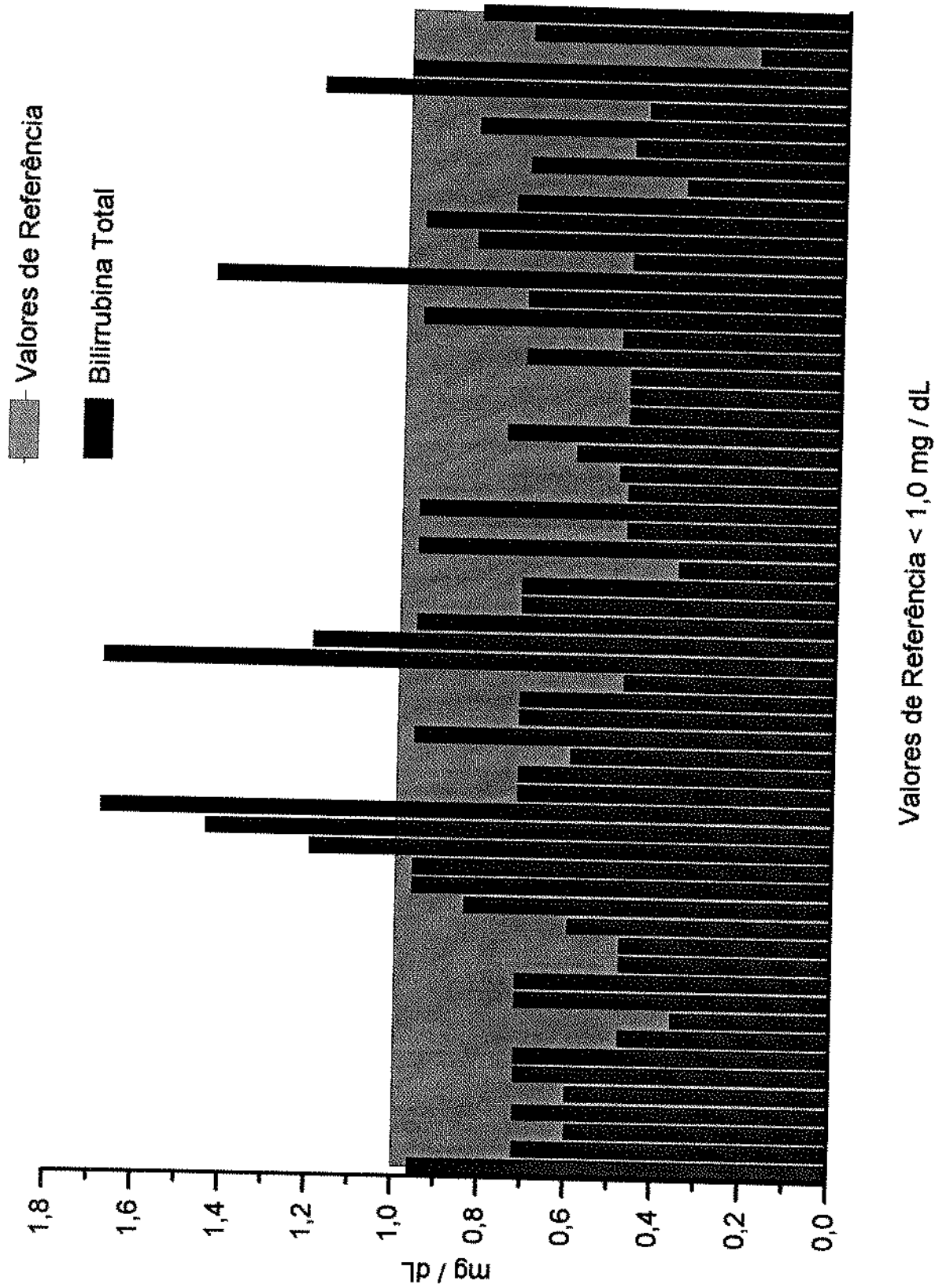
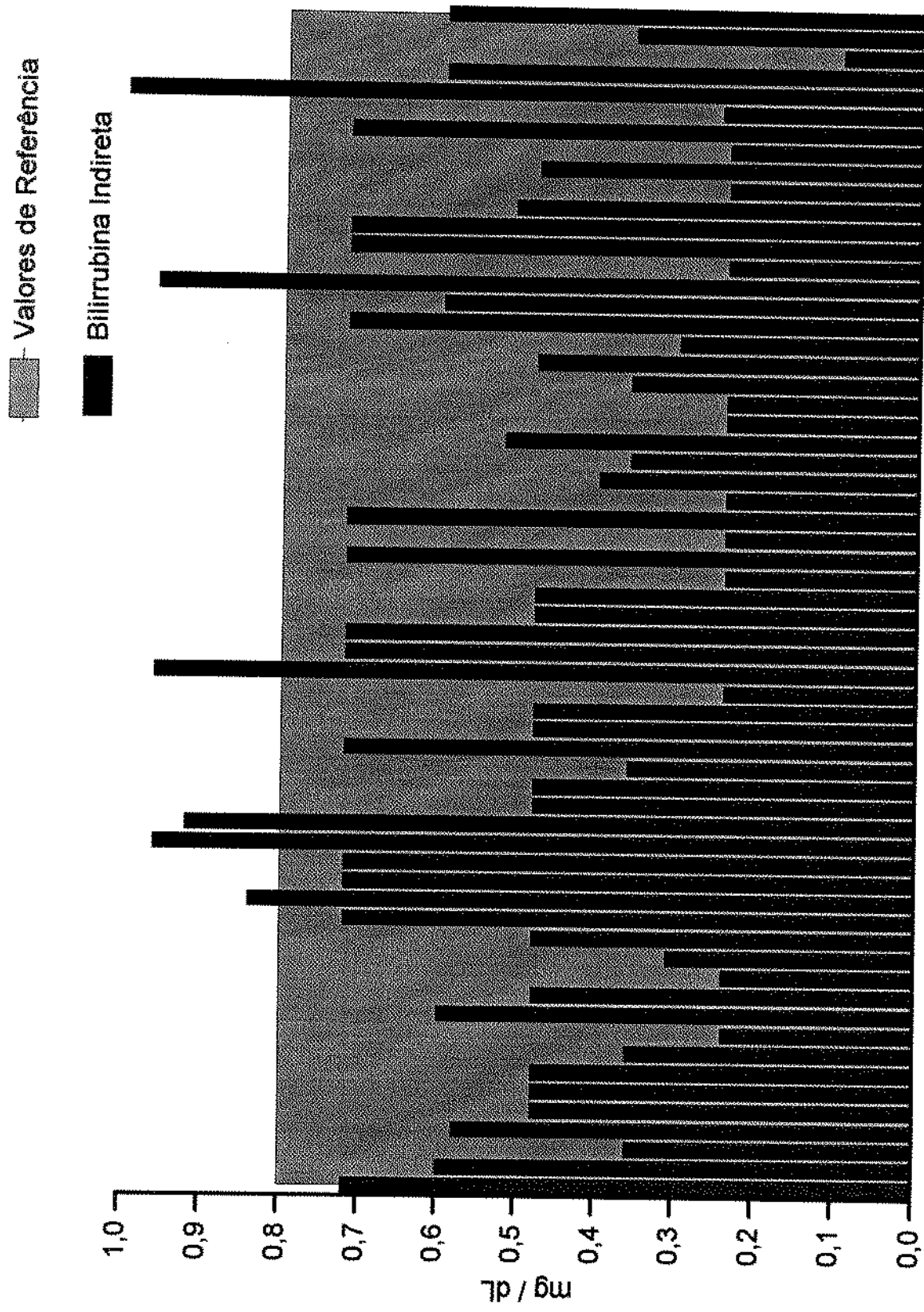
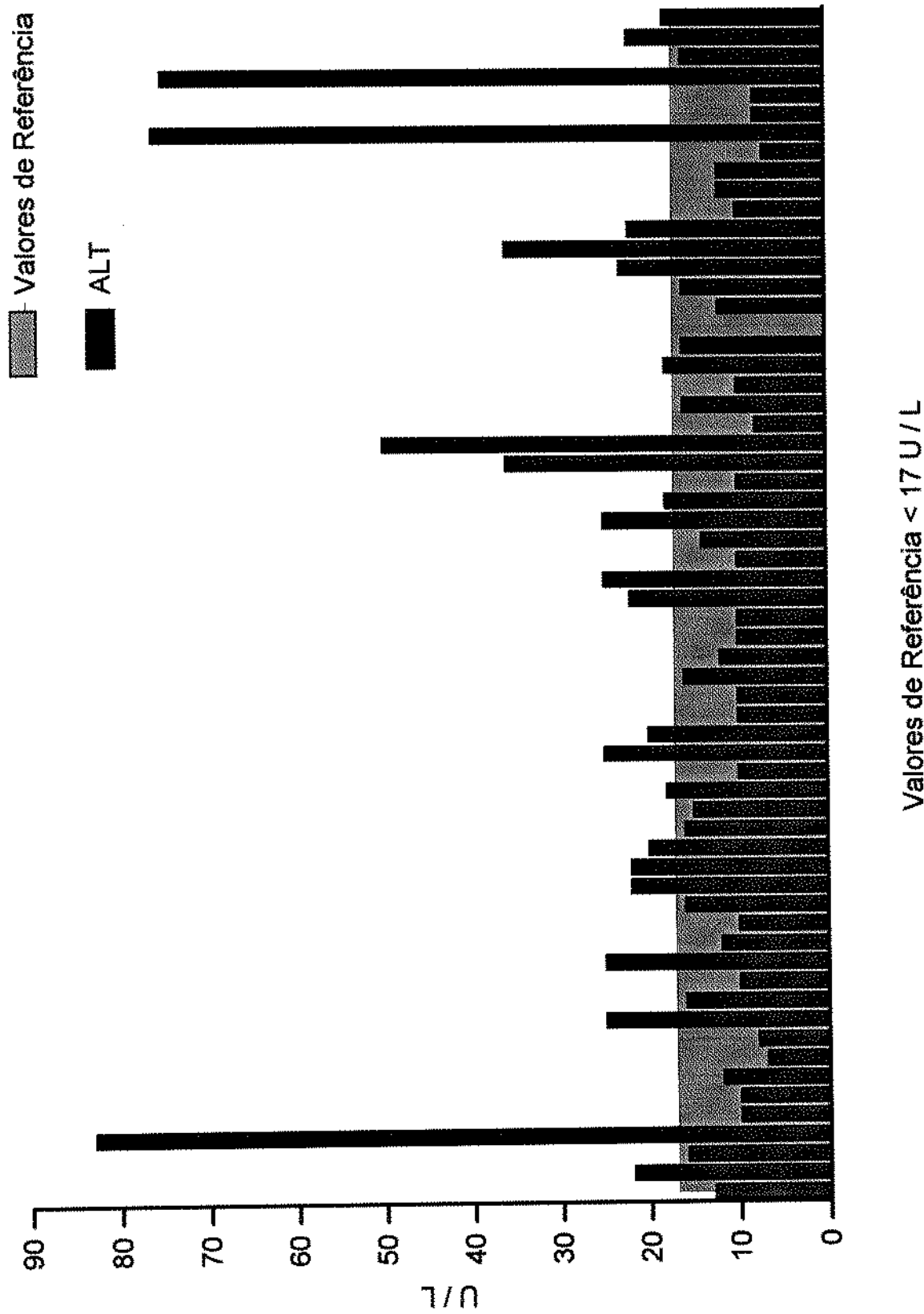


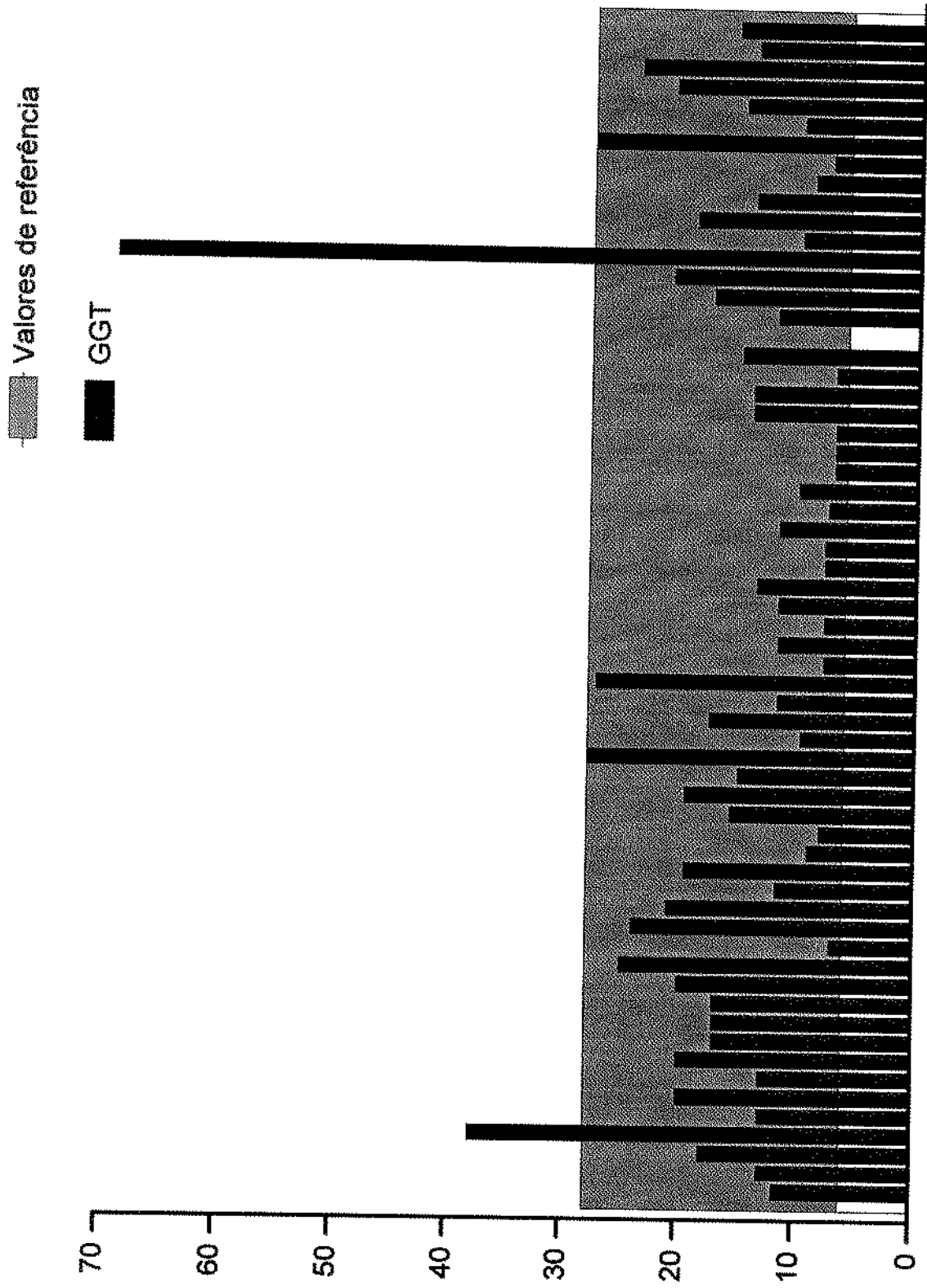
Figura 8. Níveis de bilirrubina total em trabalhadores expostos a compostos clorados



Valores de Referência < 0,8 mg / dL

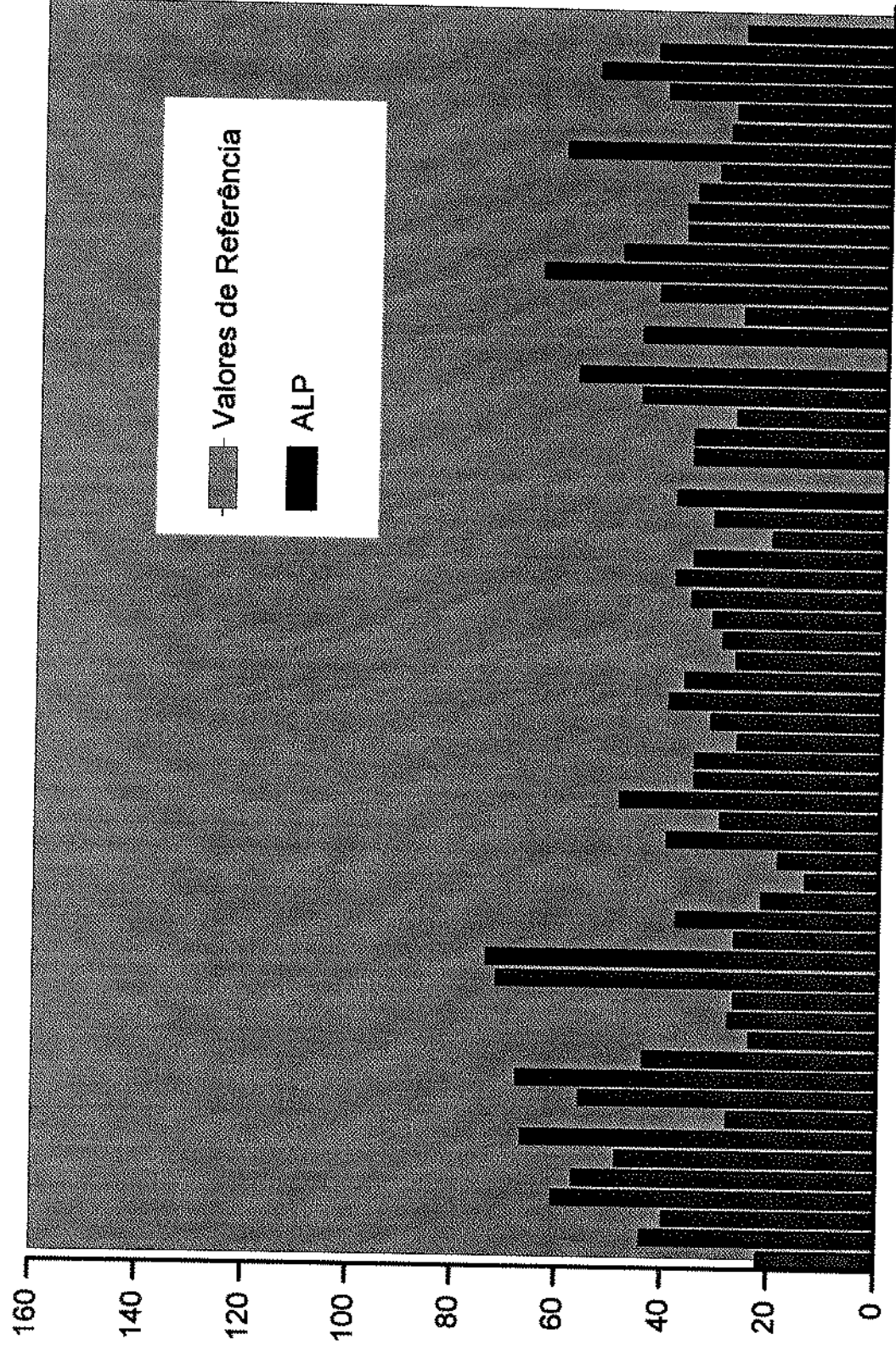
Figura 9. Níveis de bilirrubina indireta em trabalhadores expostos a compostos clorados





Valores de Referência 6 - 28 U / L

Figura 12. Níveis de GGT em trabalhadores expostos a compostos clorados



Valores de Referência < 160 U / L

Figura 13. Níveis de ALP em trabalhadores expostos a compostos clorados

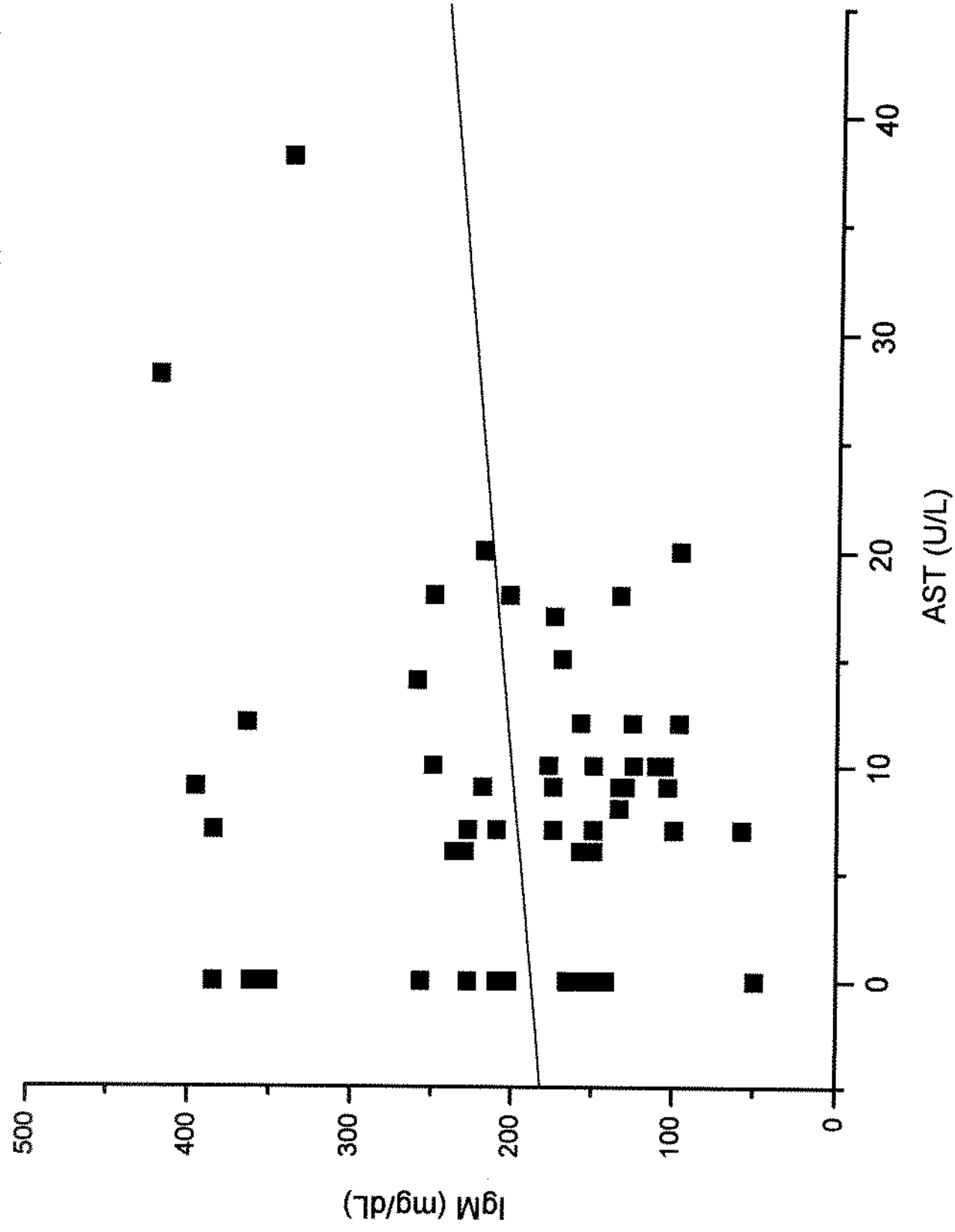


Figura 14. Correlação linear entre os níveis de IgM e AST
 $r = 0,3618$

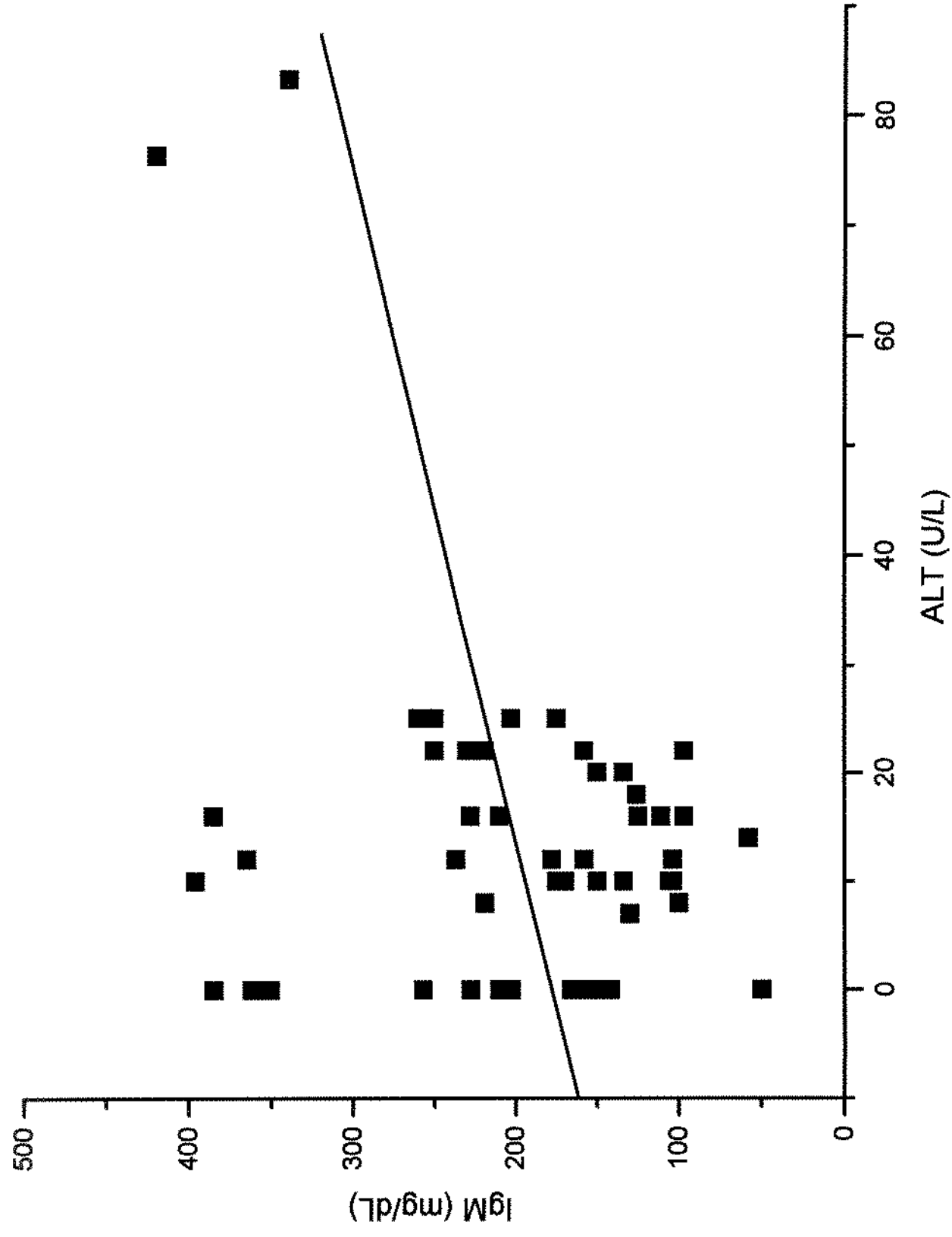
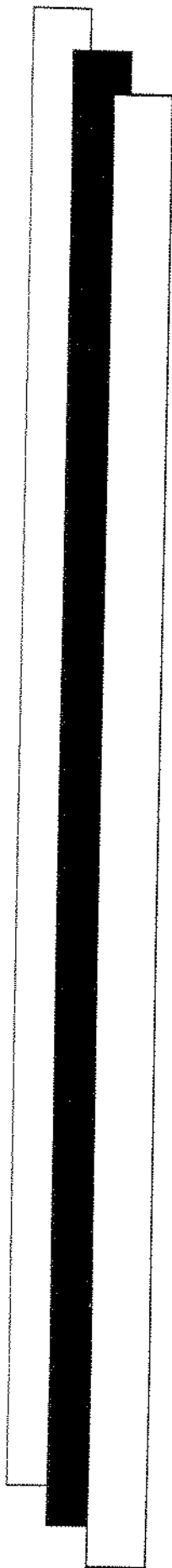


Figura 15. Correlação linear entre os níveis de IgM e ALT
 $r = 0,5066$



VI. Discussão

1. Atividade fagocitária e lítica de neutrófilos (figura 16)

O sistema fagocitário constitui um mecanismo de defesa do organismo que realiza funções especializadas juntamente com fatores humorais e celulares.

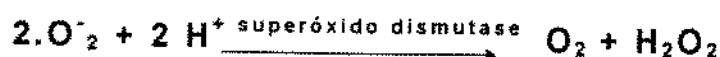
As células fagocitárias possuem a capacidade de se locomoverem até o local onde o microrganismo está localizado, no sentido de um gradiente crescente de concentração das substâncias quimioatraentes. O microrganismo está recoberto por substâncias chamadas opsoninas (imunoglobulinas e substâncias do complemento) e isto facilita o fenômeno de fagocitose, pois as células fagocitárias possuem receptores para estas opsoninas.

A seguir, há a fagocitose, onde pseudópodos são direcionados ao microrganismo e ocorre a formação do fagossomo. Os grânulos lisossomais contidos no leucócito juntam-se ao fagossomo, suas membranas fundem-se e há a formação do fagolisossomo. Nesta fase ocorre a degranulação, onde os grânulos se rompem liberando seu conteúdo enzimático no interior do vacúolo. Estes grânulos liberados contêm várias enzimas hidrolíticas, entre elas a mieloperoxidase (ROOS & WEENING, 1979).

O contato do microrganismo a ser fagocitado com a membrana celular resulta em um aumento da atividade respiratória da célula conhecido como explosão respiratória. Este fenômeno é caracterizado por um maior consumo de glicose pela via da hexose-monofosfato acompanhada por um aumento no consumo de oxigênio e produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A via hexose monofosfato, é uma importante via na geração de ribose e NADPH. O complexo enzimático responsável por esta ativação metabólica é o NADPH oxidase presente na membrana plasmática, que oxida o NADPH oriundo do ciclo da hexose monofosfato, sendo os elétrons usados para reduzir o oxigênio a ânion superóxido.

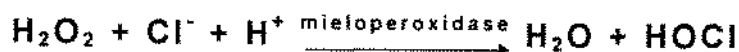
A partir do ânion superóxido formam-se peróxido de hidrogênio através da reação de dismutação espontânea ou catalisada pela enzima superóxido dismutase e radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) (KLEBANOFF, 1980; ROSEN & KLEBANOFF, 1979).

A seqüência de reações estão abaixo relacionadas:



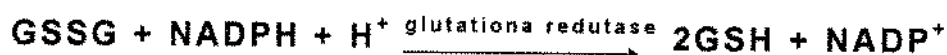
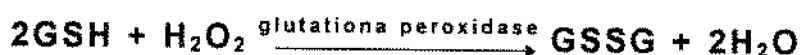
O peróxido de hidrogênio pode atravessar as membranas celulares e desta forma ter acesso aos sítios onde seus produtos altamente reativos exercem efeitos tóxicos.

O sistema constituído de peróxido de hidrogênio, halogênio e a enzima mieloperoxidase tem uma potente atividade microbicida, decorrente da formação de ácido hipocloroso (HOCl), composto altamente reativo, como representa a reação abaixo:



Este composto pode lesar o microrganismo através da oxidação de grupos sulfidrílicos ou pela peroxidação de lipídeos e também pela formação de aldeídos e cloraminas, potentes agentes bactericidas (KLEBANOFF, 1980).

O leucócito, é protegido contra os danos oxidativos de seus próprios produtos por enzimas citosólicas como a superóxido dismutase, catalase e pelo sistema glutathiona peroxidase/redutase (NAUSSEF, METCALF & ROOT, 1983). Esse sistema protege os componentes da célula do excesso de H_2O_2 formado durante a fagocitose, através das reações:



Onde : GSH= glutathiona reduzida

GSSG= glutathiona oxidada

No presente trabalho, investigamos a atividade fagocitária e lítica de neutrófilos de indivíduos com exposição ocupacional a agentes organoclorados frente a duas espécies de antígenos a saber *Candida albicans* e *Candida pseudotropicalis*. A utilização destas duas *Candidas* se justifica pelo fato da primeira ser dependente e a segunda independente da enzima mieloperoxidase para sua lise (LEHRER & CLINE, 1969).

Trabalhos recentes tem demonstrado que a atividade lítica de neutrófilos constitui um indicador sensível da exposição ocupacional a xenobióticos (TSVETKOVA et al, 1992; QUEIROZ et al, 1994 b , PERLINGEIRO & QUEIROZ, 1994). Em estudos realizados em nosso laboratório, indivíduos expostos ao chumbo apresentaram diminuição da atividade lítica frente a *Candida albicans*, mas não a *Candida pseudotropicalis* indicando portanto uma interação do

chumbo com a enzima mieloperoxidase (QUEIROZ et al, 1994b). Já, em indivíduos expostos ao mercúrio, ocorreu a diminuição da atividade lítica frente aos dois antígenos utilizados. Isto pode ser explicado pelo fato do mercúrio interagir com a porção nicotinamida da molécula de NADPH, num complexo 1:1 (MARSHAL, BOOTH & WILLIAMS, 1984). Assim este complexo atuaria como um inibidor de reações catalisadas por esta enzima como é o caso da NADPH oxidase (PERLINGEIRO & QUEIROZ, 1994).

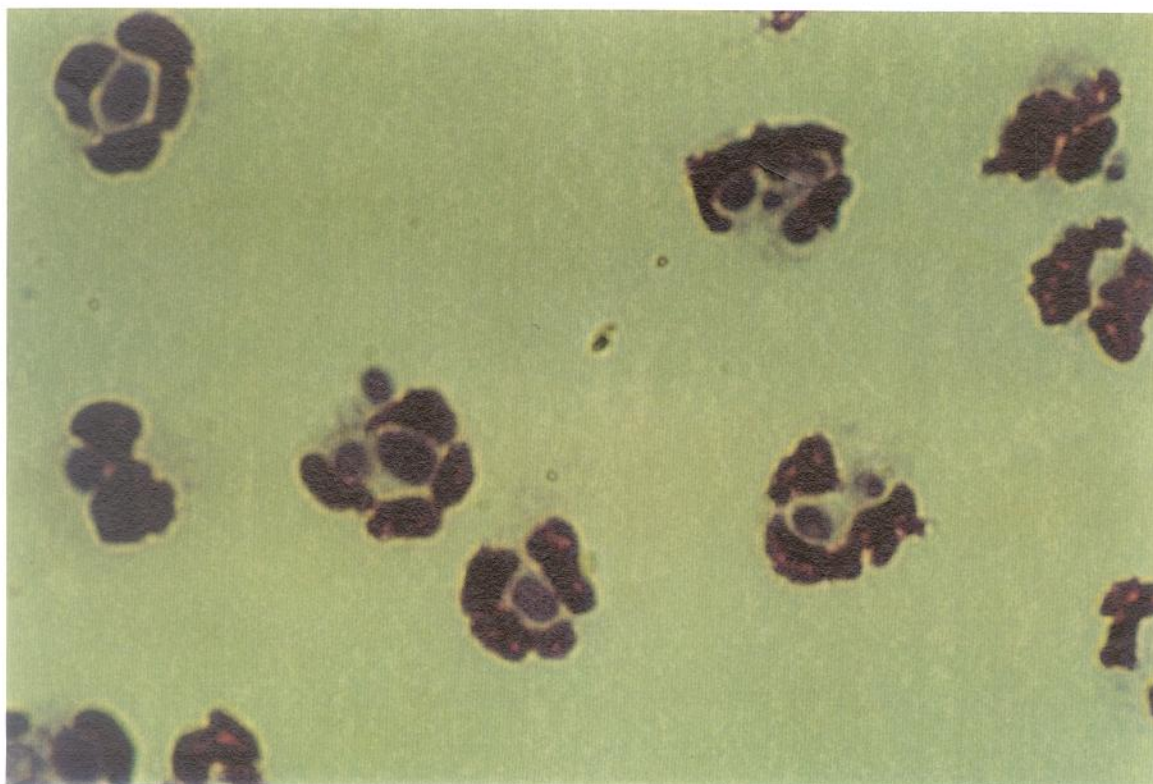
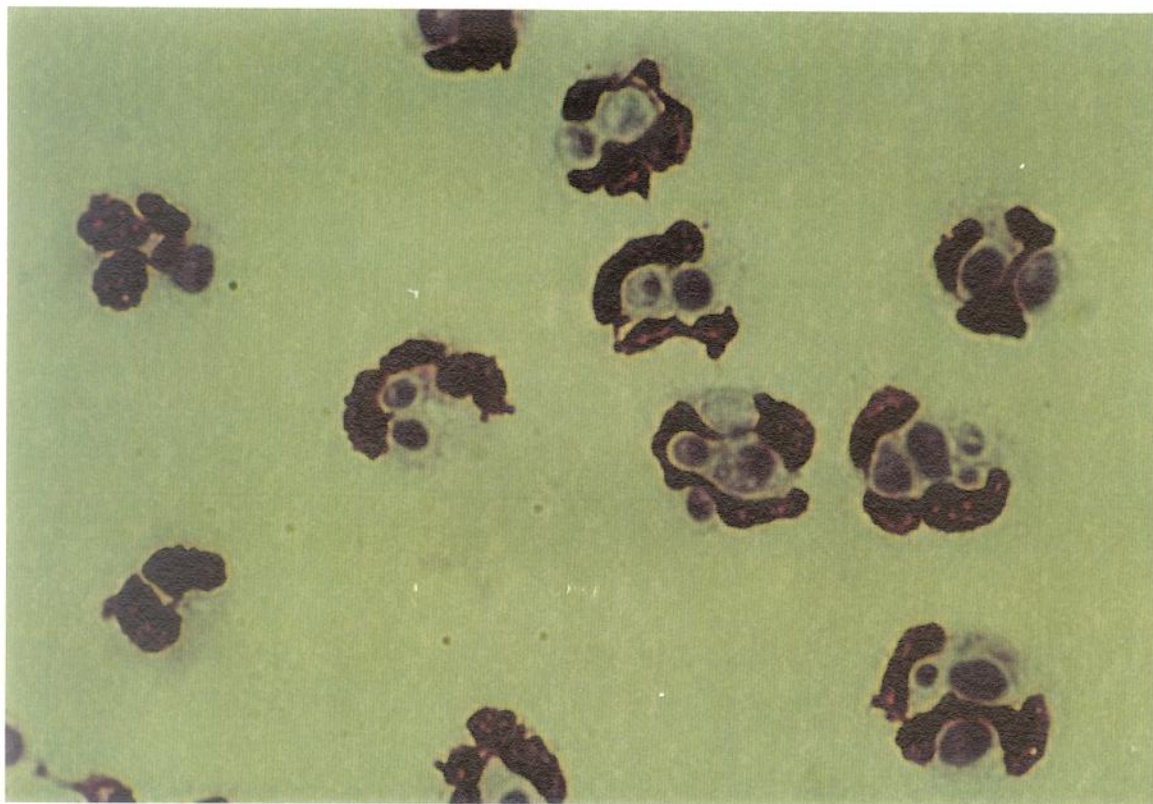
Nossos resultados apontam para um comprometimento na capacidade lítica dos neutrófilos frente as duas espécies de *Candidas*, sugerindo portanto uma interferência em uma etapa do processo lítico comum as duas espécies. Em estudos adicionais, neste projeto (QUEIROZ et al, 1995, enviado para publicação) e em indivíduos com exposição ocupacional ao chumbo e mercúrio (QUEIROZ et al, 1993; PERLINGEIRO & QUEIROZ, 1995) observamos uma diminuição significativa na capacidade de neutrófilos em reduzir o corante Nitroblue Tetrazolium (NBT).

A redução do NBT ocorre em neutrófilos após prévia fagocitose deste corante. Nós observamos, neste trabalho que a capacidade fagocitária está normal e apenas a função lítica de neutrófilos está deficiente. Isto indica que a redução de atividade na explosão respiratória apontada pela deficiência em reduzir o NBT não se deve a defeitos no processo de fagocitose. Uma explicação para este fato portanto deve ser atribuída a alterações metabólicas nos neutrófilos de indivíduos expostos a compostos organoclorados, uma vez que a redução intracelular do corante depende da ativação da via hexose-monofosfato. A redução nesta função dos neutrófilos é um reflexo da redução na geração de ânion superóxido (KLEBANOFF, 1988).

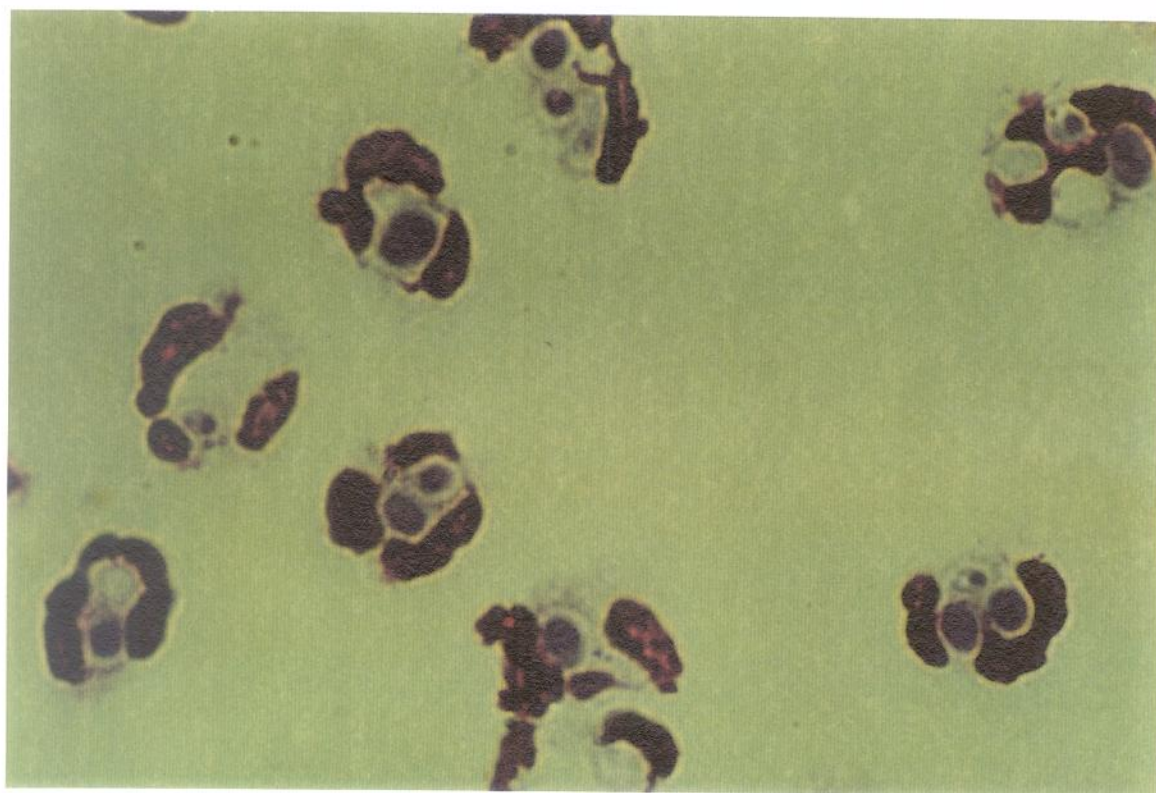
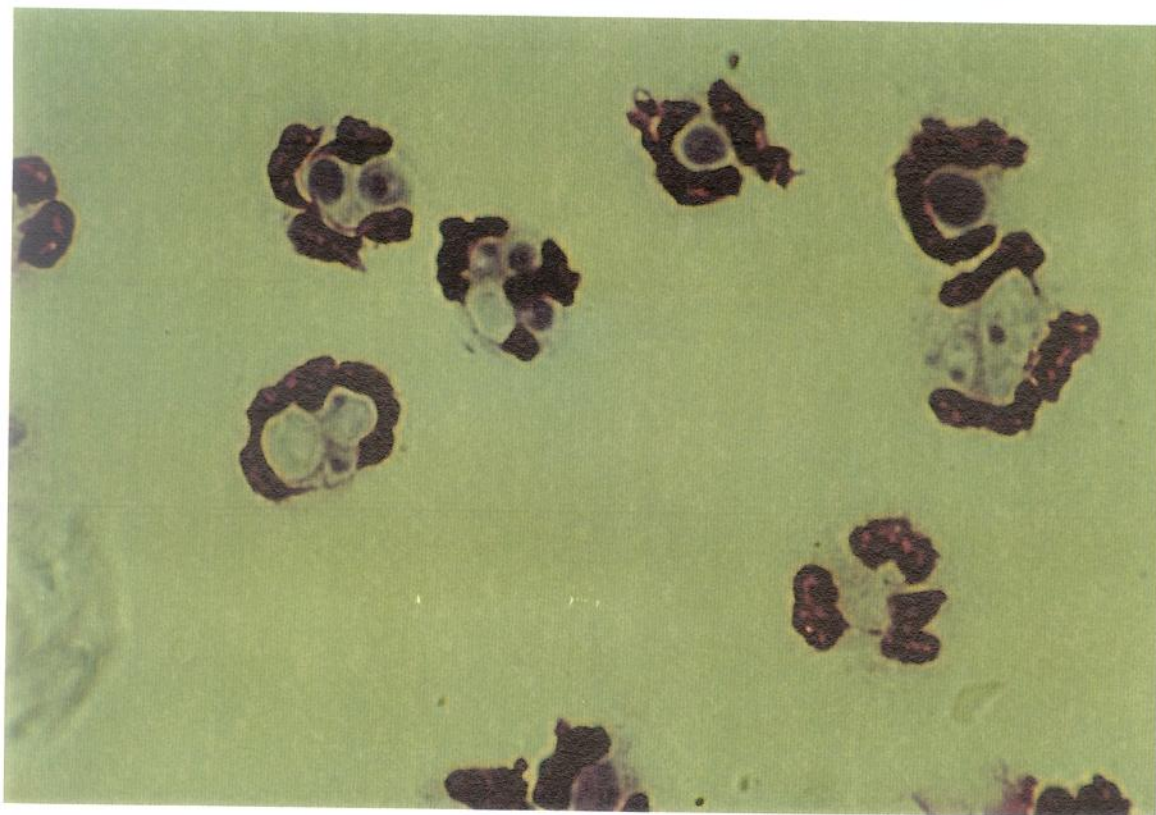
Dados na literatura demonstram que no fígado, os compostos organoclorados, induzem a um aumento da taxa de ânion superóxido levando a um aumento significativo nos indicadores de lipoperoxidação. Concomitantemente, ocorre diminuição da atividade dos sistemas protetores da célula através de interferência com as enzimas superóxido dismutase, catalase e do conteúdo de glutathione reduzida (VIDELA, BARROS & JUNQUEIRA, 1990). Outro estudo demonstrou que as alterações no metabolismo oxidativo provocado pelos compostos organoclorados ocorre também em vários tecidos extra-hepáticos em animais tratados com estes compostos (STOHS, 1990).

No nosso estudo, a diminuição da capacidade fagocítica de neutrófilos, pode estar relacionada a um desequilíbrio nos mecanismos antioxidantes da célula levando a uma condição tóxica e conseqüente redução na atividade funcional da mesma.

Portanto, nossos achados clínicos corroboram os dados na literatura *in vitro* e *in vivo* que apontam o estresse oxidativo como responsável pelos efeitos tóxicos dos compostos organoclorados.



Fotos 1 e 2. Fagocitose e lise de neutrófilos de trabalhadores expostos a compostos clorados.



Fotos 3 e 4. Fagocitose e lise de neutrófilos de indivíduos não expostos a compostos clorados (controles).

2. Avaliação das imunoglobulinas

O anticorpo é uma globulina sintetizada por linfócitos B e principalmente por plasmócitos, por estímulos de um antígeno e que possui a propriedade de interagir com este de maneira específica.

Após o reconhecimento do antígeno pelo linfócito B, seguem-se várias transformações, ocorrendo divisões mitóticas sucessivas. Diferenciando-se a partir dos linfócitos B, surge outro tipo celular o plasmócito. Este sintetiza e libera um grande número de imunoglobulinas capazes de interagir especificamente com o estímulo imunogênico inicial. Esta ativação dos linfócitos B é independente da cooperação dos linfócitos T, ou seja por antígenos T independentes.

Há também a ativação dos linfócitos B induzida por antígenos T dependentes, onde depois de processados por macrófagos, estes antígenos T dependentes associam-se a membrana plasmática dessa célula e no contexto das moléculas de classe II do Complexo Principal de Histocompatibilidade são apresentadas aos linfócitos T auxiliares. Estes, ao interagirem através de seu receptor específico com o antígeno e as moléculas de classe II, ativam-se expandindo o seu clone por divisões múltiplas e produzindo fatores com propriedades de reagir com os linfócitos B. As células T ativadas interagem com os linfócitos B via "ponte antigênica", na qual uma porção do antígeno está ligada a imunoglobulina de superfície das células B e outra porção ao receptor dos linfócitos T que simultaneamente liga-se com a molécula de classe II.

A interação simultânea com o antígeno e a célula T auxiliar inicia uma série de eventos que leva os linfócitos B à transformação morfológica em célula blástica. Neste estágio, o linfócito B necessita de um fator com atividade mitogênica que leva a

célula a divisões sucessivas. São os linfócitos T auxiliares que liberam este fator.

Consideram-se três grupos de fatores liberados pelos linfócitos T envolvidos na estimulação dos linfócitos B:

- a) fator com atividade de induzir a proliferação (BSF1 ou BCGF)
- b) fator com atividade de induzir a diferenciação celular até plasmócito (BCDF)
- c) fator com propriedades de induzir a proliferação e diferenciação final (BGDF)

Ao diferenciar-se em plasmócitos a célula B perde progressivamente suas imunoglobulinas de superfície. Os plasmócitos são células terminais e, portanto, não se diferenciam mais, e secretam apenas uma classe de imunoglobulinas com especificidade idêntica à do linfócito precursor.

As duas principais funções das imunoglobulinas são o reconhecimento do antígeno (realizado pelo fragmento Fab) e as funções efetoras (realizadas pelo fragmento Fc).

O reconhecimento do antígeno é realizado pela interação do determinante antigênico com o sítio para o anticorpo específico. Em geral, os sítios combinatórios dos anticorpos são dirigidos contra bactérias, fungos, vírus e seus produtos. Reconhecem também epítomos presentes em parasitas protozoários e metazoários. A simples interação entre um antígeno com o anticorpo não leva necessariamente à destruição do mesmo (exceção feita a interação entre certas toxinas bacterianas e anticorpos onde ocorre a completa neutralização do produto bacteriano). A ligação antígeno-anticorpo, em geral, prepara para a etapa efetora que é mediada por outros agentes. A porção Fc de uma imunoglobulina serve para ativar o

complemento, para ligá-la a vários receptores celulares e transferi-la através das membranas.

A IgG está em maior quantidade no plasma, e tem a função de neutralizar as toxinas bacterianas e de combinar-se com microrganismos para facilitar sua fagocitose além de ativar o complemento.

A IgM é um agente aglutinante e citolítico extremamente eficaz, dado que aparece nos estágios iniciais da resposta à infecção e que está confinado em grande parte à corrente sangüínea.

A IgA aparece seletivamente nas secreções mucosas, tais como saliva, lágrimas, fluídos nasais, suor, colostro e as secreções do pulmão e nos tratos geniturinário e gastrointestinal, onde tem, claramente a função de defender as superfícies externas expostas do corpo contra o ataque de microrganismos. Funciona inibindo a aderência destes à superfície das células da mucosa, impedindo assim sua penetração nos tecidos orgânicos.

Os efeitos do HCB, sobre a respostas imune humoral variam de acordo com a espécie estudada. Assim, camundongos adultos tratados com dieta de 167 ppm de HCB por seis semanas apresentaram supressão na resposta imune humoral, com diminuição de IgG, IgM e mais significativamente de IgA (LOOSE et al, 1977). Por outro lado, em ratos de três a quatro semanas tratados com dieta de 500, 1000, 2000 mg/kg por três semanas, observou-se um aumento significativo de IgM, mas os níveis de IgG não sofreram alteração (VOS, 1979).

São poucos os estudos clínicos encontrados na literatura dos efeitos dos compostos organoclorados sobre as imunoglobulinas. Assim, diminuição nos níveis séricos de IgM e IgA, mas não de IgG foram relatados em indivíduos expostos ao BPC. Foram observados também, diminuição das porcentagens de linfócitos T auxiliares, mas

não houve alteração nas porcentagens de linfócitos B e T supressores(WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1993).

Nossos resultados demonstraram aumento significativo de IgG e IgM, sendo que os níveis de IgA estavam normais. Embora não tenham sido observadas correlações entre os níveis de IgG e IgM e os níveis de HCB no sangue, pudemos verificar uma correlação positiva entre os níveis de IgM e o tempo de exposição.

Os indicadores de função hepática utilizados neste trabalho foram os níveis séricos de bilirrubinas total e frações, AST, ALT, GGT e ALP, sendo que obtivemos alterações nos níveis de AST e ALT, pequena alteração nos níveis de bilirrubinas total e direta, sem alteração nos níveis de GGT e ALP. Isto sugere que pode haver uma alteração provavelmente de origem tóxica (HENRY, 1982). As correlações entre o aumento de IgM e as enzimas AST e ALT nos leva a considerar o fato de que o aumento das imunoglobulinas possa estar relacionado a disfunção hepática demonstrada nestes trabalhadores.

A associação entre níveis elevados das imunoglobulinas e doenças hepáticas é bem conhecida, e parece estar relacionado com a hiperestimulação do sistema imunológico devido a um aumento na carga antigênica circulante não retirada do organismo por uma alteração na função metabolizadora hepática (GIRON et al, 1992). O envolvimento de diferentes classes de imunoglobulinas em patologias hepáticas tem sido estudado com objetivo diagnóstico e prognóstico destas doenças. Os níveis das globulinas séricas está muitas vezes elevado em pacientes com doenças hepáticas crônicas, atingindo principalmente a fração das imunoglobulinas interferindo desta forma na resposta imunológica. O aumento das gamaglobulinas na hepatite ativa crônica, na cirrose criptogenética e na hepatite viral subaguda ocorre principalmente às custas da IgG e contém

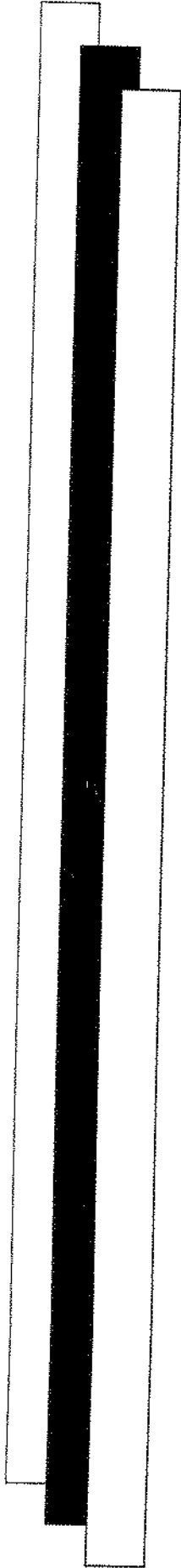
apenas mínimas elevações das outras imunoglobulinas. Na cirrose alcoólica, a IgA e a IgG estão aumentadas (GIRON et al, 1992). Na cirrose biliar primária, que parece ocorrer por um mecanismo autoimune, encontramos o aumento de IgM e IgG (MENÉNDEZ-CARO et al, 1994; JAMES et al, 1980). Portanto o aumento de IgG e IgM em associação com o aumento das transaminases encontrado nestes trabalhadores, sugerem alguma relação com um possível mecanismo autoimune. No entanto, investigações futuras são necessárias para clarificar este ponto. O mecanismo de surgimento de um processo autoimune é dependente da ativação de linfócitos B e conseqüente aumento nos níveis de imunoglobulinas. Este estímulo, pode ocorrer de forma dependente ou independente dos linfócitos T (HOLLAND & SPIVAK, 1992; BONA et al, 1979). Portanto um outro fator que pode estar alterado em um quadro de aumento de imunoglobulinas pode ser uma deficiência na regulação de linfócitos T, gerando uma cooperação anormal entre os linfócitos T-B e conseqüente aumento na secreção de linfocinas pelos linfócitos T auxiliares. Esta regulação imunológica anormal poderia provocar uma alteração no equilíbrio dinâmico deste sistema e possivelmente contribuir para uma autorreatividade e conseqüente dano hepático. (MENÉNDEZ-CARO et al, 1994, JAMES et al, 1980).

No entanto, aumento nos níveis séricos de imunoglobulinas em indivíduos expostos a compostos tóxicos nem sempre está associado a disfunções hepáticas. Trabalhos realizados em nosso laboratório demonstraram que indivíduos expostos ocupacionalmente ao mercúrio possuem aumento de IgG, IgM e IgA sem contudo haver alteração das transaminases AST e ALT (QUEIROZ et al, 1994a). Uma outra parte deste trabalho (DANTAS & QUEIROZ, 1995, enviada para publicação) demonstrou que estes indivíduos possuem uma diminuição no número de linfócitos B, de linfócitos T auxiliares e um aumento nos linfócitos T supressores. Embora aparentemente

contraditórios, estes dados são conciliados com as descobertas recentes de que os linfócitos T supressores estão subdivididos em duas subpopulações sendo que uma delas suprime e a outra estimula os linfócitos B na produção de imunoglobulinas (KEMENY et al, 1994).

Um outro fator importante a ser considerado como indutor no aumento das transaminases é a ingestão de álcool, comum entre estes trabalhadores. No entanto, devemos considerar aqui alguns resultados anteriores, onde a ingestão alcoólica diária por trabalhadores expostos ao mercúrio não ocasionou aumento de AST e ALT, apesar do aumento policlonal dos níveis séricos de imunoglobulinas estar presente (QUEIROZ et al, 1994a).

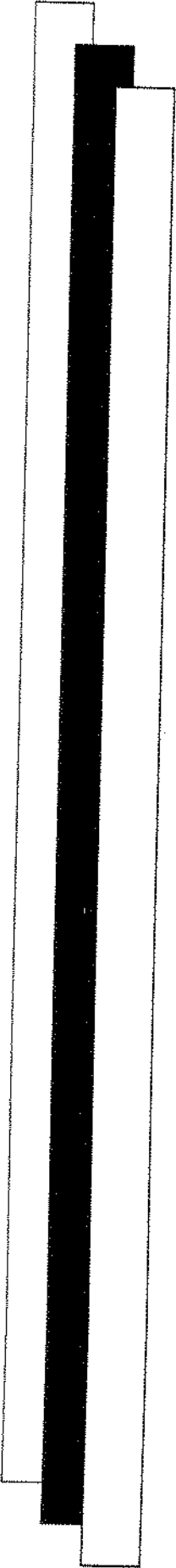
Assim, nossos resultados demonstram que a determinação dos níveis séricos de imunoglobulinas também constitui um indicador sensível dos efeitos dos organoclorados no sistema imunológico.



VII. Conclusão

No estudo de trabalhadores com exposição crônica a compostos organoclorados observamos:

1. Todos os indivíduos avaliados apresentaram níveis sanguíneos de hexaclorobenzeno
2. A atividade fagocitária de neutrófilos se mostrou semelhante quando comparada aos controles sem história de exposição, frente aos dois antígenos utilizados. Por outro lado, a atividade lítica de neutrófilos mostrou-se significativamente reduzida quando comparada aos controles, frente aos dois antígenos utilizados.
3. Os níveis séricos de IgG e IgM mostraram-se significativamente aumentados quando comparados aos controles. Por outro lado, os níveis séricos de IgA não estavam alterados.
4. Houve uma correlação linear entre o tempo de exposição aos compostos organoclorados e o aumento dos níveis séricos de IgM.
5. Os indicadores de função hepática que se mostraram alterados foram os níveis séricos de bilirrubina direta, AST e ALT, sem alteração dos níveis séricos de GGT e ALP.
6. Houve uma correlação linear entre o aumento dos níveis séricos de IgM e as transaminases AST e ALT



VIII. Summary

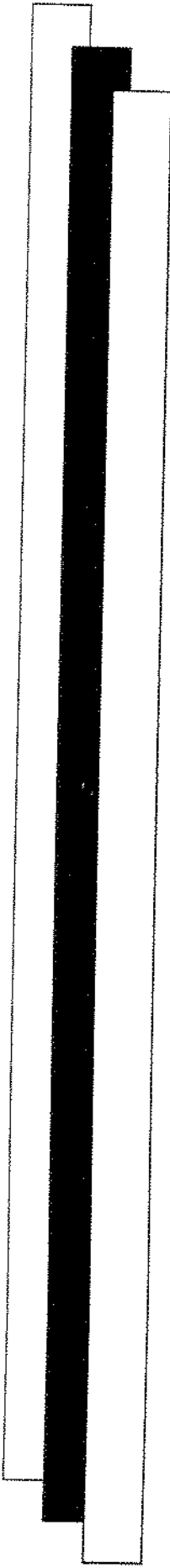
This work is part of a larger project intitlled "Integrated Project for the Study of the Hematotoxicity of Benzene and Pesticides", which is a multidisciplinary study for the systemic evaluation of workers and ex-workers of the Empresa Química de Cubatão, São Paulo, Brazil.

We have studied in a group of workers exposed to chlorinated compounds the inespecific immune response, as measured by the evaluation of the engulfment and killing capabilities of the neutrophils, and humoral immune response, as measured by the levels of immunoglobulins in serum. Hepatic function and the blood levels of hexachlorobenzene (HCB), which was chosen as a biological indicator of exposure, were determinated by other scientists in the group. All the workers studied had detectable levels of HCB in the blood.

Our results demonstrated a significant reduction in the litic activity of the neutrophils in the presence of both antigens, *Candida albicans* and *Candida pseudotropicalis*. These findings might be related to a derangement in the antioxidant mechanisms of the cell caused by the chlorinated compounds. This would lead to a toxic condition with consequent reduction in the functional activity of the cell.

The have also observed an increase in the levels of IgG and IgM in the serum, which was associated with the changes in hepatic function observed in these workers.

The results indicate that the study of the litic function of the cell and the serum levels of immunoglobulins provide a sensitive functional indicator of the toxic effects of chlorinated compounds in exposed populations.



IX. Referências Bibliográficas

- BALLART, I.J.; ESTEVEZ, M.E.; DIEZ, R.A.; SEN, L.-Comparison of Candida killing activity measured by chemiluminescence and cytomorphological methods in human phagocytes. **J. Immunol. Met.**, **97**: 263-268, 1987.
- BALLART, I.J.; ESTEVEZ, M.E.; DIEZ, R.A.; SEN, L.-Comparison of Candida killing activity measured by chemiluminescence and cytomorphological methods in human phagocytes. **J. Immunol. Met.**, **97**: 263-268, 1987.
- BARNETT, J.B.; BARFIELD, L.; WALLS, R.; JOYNER, R.; OWENS, R.; SODERBERG, L.S.F.-The effect of *in utero* exposure to hexachlorobenzene on the developing immune response of Balb/C mice. **Toxicol. Lett.**, **39**: 263-274, 1987.
- BASELT, R.C. & CRAVEY, R.H. - Hexachlorobenzene In: Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 3^o ed. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1990 p. 400-401.
- BONA, C.; BRODER, S.; DIMITRIU, A.; WALDAMANN, T.A.-Polyclonal activation of human B lymphocytes by Nocardia water soluble mitogen. **Immunological Rev**, **45**: 69-92, 1979.
- CHANG, K.J.; HSIEH, K.H.; LEE, T.P.; TANG, S.Y.; TUNG, T.C.-Immunologic evaluation of patients with PCB-poisoning: Determination of lymphocyte subpopulations. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, **61**: 53-58, 1981.
- CLARK, D.A.; GAULDIE, J.; SZEWEZUK, M.R.; SWEENEY, G.-Enhanced suppressor cell activity as a mechanism of immunosuppression by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **168**: 290-299, 1981.
- CORNISH, H.H.: Problems posed by observations of serum enzyme changes in toxicology. **C.R.C. Crit. Rev. Toxicol.**, **1**:1-32, 1971.

- DALE, W.E., ET AL.: Hexane extractable chlorinated insecticides in human blood. **Life Sciences**, 5: 47, 1966.
- DANTAS, D.C.M. & QUEIROZ, M.L.S. - Immunoglobulin E levels and quantitation of B-lymphocytes in mercury exposed workers. **Int. J. Immunopharmacology**, artigo enviado para publicação
- DE GROTT, H. & HAAS, W. - Self-catalysed, O₂ independent inactivation of NADPH on dithionite-reduced microsomal cytochrome P 450 by carbon tetrachloride. **Biochem. Pharmacol.** 30: 2343-2347, 1981.
- DESMOND BURKE, M. - Liver function. **Human Pathology**, 6(3):273-286, 1975.
- ESPOSITO, M.P.; TIERNAN, T.O.; DRYDEN, F.E. - Dioxins, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati 1980, p.187-229
- FAITH, R.E. & LUSTER, M.I.: Investigation on the effects of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin on parameters of various immune functions. **Ann. N. Y. Acad. Sci. U.S.A.**, 320: 564-571, 1979.
- FAITH, R.E. & MOORE, J.A. - Impairment of thymus-dependent immune function by exposure of the developing immune system to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). **J. Toxicol. Environ. Health.**, 3: 451-464, 1977.
- FAITH, R.E.; LUSTER, M.I.; MOORE, J.A. - Chemical separation of helper cell function and delayed hypersensitivity responses. **Cell. Immunol.**, 40: 275-284, 1978.
- GIRON, J.A.; ALVARES-MON, M.; MENÉNDEZ-CARO, J.L.; ABREU, L.; ALBILLOS, A.; MANZANO, L.; DURANTEZ, A. - Increased spontaneous and lymphokine conditioned IgA and IgG synthesis by B cells from alcoholic cirrhotic patients. **Hepatology**, 16(3): 664-670, 1992.

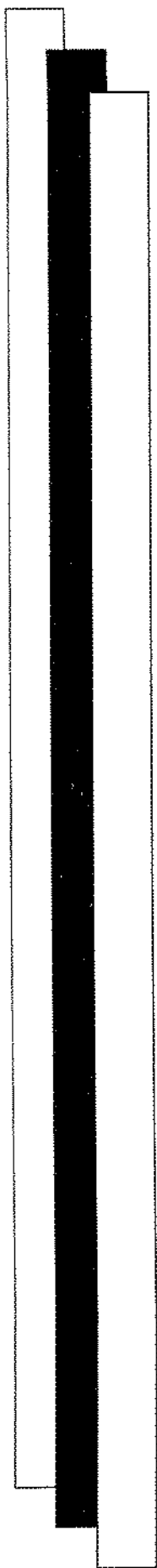
- GREENLE, W.F. & POLAND, A. - Nuclear uptake of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/2J mice. **J. Biol. Chem.**, **254**: 9814-9821, 1979.
- HENRY, J.B.- Avaliação das funções e da integridade do fígado. In: TODD, SANFORD, DAVIDSON Diagnósticos clínicos e conduta terapêutica por exames laboratoriais. 16ª edição. São Paulo, Editora Manole, 1982, p. 341-387.
- HOFFMAN, R.E.; STEHR-GREEN, P.A.; WEEB, K.B.; GREGORY EVANS, R.; KNUTSEN, A.P. - Health effects of long-term exposure to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. **J.A.M.A.**, **255**: 2031-2038, 1986.
- HOLLAND, K. & SPIVAK, J.L.- Drug-induced immunological disorders of the blood. In: Clinical Immunotoxicology. Eds. D.S. Newcombe, N.R. Rose & J.C. Bloom. Raven Press, Ltd., New York, 1992, p 141-153.
- JAMES, J.P.; ELSON, C.O.; JONES, E.A.; STROBER, W. - Abnormal regulation of immunoglobulin synthesis in vitro in primary biliary cirrhosis. **Gastroenterology**, **79**: 242-254, 1980.
- KEMMENY, D.M.; NOBLE, A.; HOLMES, B.J.; DIAZ-SANCHES, D.- Immune regulation: a new role for the CD 8+ T cell. **Immunology Today**, **15**(3): 107-110, 1994.
- KIMBROUGH, R.D.; SQUIRE, R.A.; LINDER, R.E.; STRANDBERG, J.D.; MONTALI, R.J.; BURSE, V.W. - Induction of liver tumors in Sherman strain female rats by polychlorinated biphenyls. **J. Natl. Cancer Inst.**, **55**: 1453-1459, 1975.
- KLEBANOFF, S. J. - Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. **Annals of Internal Medicine**, **93**: 480-489, 1980.
- KLEBANOFF, S.J.-Phagocytic cells: products of oxygen metabolism. In Inflammation: Basic principles and clinical correlates.

- GALLIN, J.I., GOLDSTEIN, I.M. & SNYDERMAN, R. (Eds), chapter 23, p401 Raven Press: New York, 1988.
- KOLLER, L.D. & THIGPEN, J.E. - Reduction of antibodies to pseudorabies virus in PCB exposed rabbits. **Ann. J. Vet. Res.**, **34**: 1605-1606, 1973.
- LEHRER, R.J. & CLINE, M.J. - Interaction of *Candida albicans* with human leukocytes and serum. **J. Bacteriol.**, **98**: 996-1002, 1969.
- LOOSE, L.D.; PITTMAN, K.A.; BENITZ, K.F.; SILKWORTH, J.B. - Polychlorinated biphenyl and hexachlorobenzene induced humoral immunosuppression. **Journal of the Reticuloendothelial Society**, **22**(3): 253-271, 1977.
- LOOSE, L.D.; PITTMAN, K.A.; SILKWORTH, J.B.; MUELLER, W.; COULSTON, F. - Environmental chemical induced immune dysfunction. **Ecotoxicol. Environ. Safety.**, **2**: 173-178, 1978.
- LUSTER, M.I.; GERMOLEC, D.R.; ROSENTHAL, G.J. - Selective effects of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin and corticosteroid on *in vitro* lymphocyte maturation. **J. Immunol.**, **140**: 928-935, 1988.
- MANCINI, G.; VAERMAN, J.P.; CARBONARA, A.O.; HEREMANS, J.F. - A single-radical diffusion method for the immunological quantitation of proteins. **Biol. Fluids.**, **11**: 370-373, 1964.
- MARSHAL, J.L.; BOOTH, J.E.; WILLIAMS, J.W. - Characterization of the covalent mercury (II)-complex. **J. Biol. Chem.**, **259**: 3033-3036, 1984.
- MENÉNDEZ-CARO, J.L.; ALVAREZ-MON, M.; GIRON, J.A.; MANZANO, L.; GARRIDO, A.; ABREU, L.; ALBILLOS, A.; DURANTEZ, A. - Increased IgM B cell differentiation lymphokine production by T lymphocytes from patients with primary biliary cirrhosis. **Journal of Hepatology**, **20**: 446-453, 1994.

- NAUSSEF, N.M.; METCALF, J.A.; ROOT, R.K. - Role of myeloperoxidase in the respiratory burst of human neutrophils. **Blood**, **61**(3):483-492, 1983.
- PERLINGEIRO, R.C.R. & QUEIROZ, M.L.S.- Measurement of the respiratory burst and chemotaxis in polymorphonuclear leucocytes from mercury-exposed workers. **Human & Experimental Toxicology**, **14**: 281-286, 1995.
- PERLINGEIRO, R.C.R.; QUEIROZ, M.L.S. - Polymorphonuclear phagocytosis and killing and phagocytic splenic function in workers exposed to inorganic mercury. **Int. J. Immunopharmac.** **16**(12):1011-1017, 1994.
- PETERS, H.A. - Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. **Fed Proc**, **35**: 2400-2403, 1976.
- POLAND, A.; GLOVER, E.; KENDE, A.S. - Sterospecific, high affinity binding of 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cytosol. Evidence that the binding species is receptor for induction of aryl hydrocarbon hydroxylase. **J. Biol. Chem.**, **251**: 4936-4945, 1976.
- QUEIROZ, M.L.S.; ALMEIDA, M.; GALLÃO, M.I.; HÖEHR, N.F.- Defective neutrophil function in workers occupationally exposed to lead. **Pharmacology & Toxicology**, **72**: 73-77, 1993.
- QUEIROZ, M.L.S.; COSTA, F.F.; BINCOLETO, C.; PERLINGEIRO, R.C.R.; DANTAS, D.C.M.; CARDOSO, M.P.; ALMEIDA, M. - Engulfment and killing capabilities of neutrophils and phagocytic splenic function in persons occupationally exposed to lead. **Int. J. Immunopharmac.**, **16**: 239-244, 1994 b.
- QUEIROZ, M.L.S.; PERLINGEIRO, R.C.R.; BINCOLETO, C. - Defective neutrophil function in workers occupationally exposed to chlorinated compounds. **Int. J. Immunopharmacology**, artigo enviado para publicação.

- QUEIROZ, M.L.S.; PERLINGEIRO, R.C.R.; BINCOLETTTO, C.; ALMEIDA, M.; CARDOSO, M.P.; DANTAS, D.C.M. - Immunoglobulin levels and cellular immune function in lead exposed workers. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, **16** (1),115-128,1994 c.
- QUEIROZ, M.L.S.; PERLINGEIRO, R.C.R.; DANTAS, D.C.M.; ANNICHINO BIZZACCHI, J.M.; DE CAPITANI, E.M. - Immunoglobulins levels in workers exposed to inorganic mercury. **Pharmacology and Toxicology**,**74**: 72-75, 1994 a.
- ROOS, D. & WEENING, R.S. - Defects in the oxidative killing of microorganisms by phagocytic leukocytes. Ciba Foundation Symposium, 65: 225-262, 1979.
- ROSEN, H. & KLEBANOFF, S. J. - Bactericidal activity of a superoxide anion generating system: a model for the polymorphonuclear leukocyte. **J. Exp. Med.** **149**: 27, 1979.
- SABOORI, A.M. & NEWCOMBE, D.S. - Environmental chemicals with Immunotoxic properties. In: NEWCOMBE, D.S.; ROSE, N.R.; BLOOM, J.C., ed. - Raven Press Ltda. Clinical Immunotoxicology. New York, 1992, p. 365-400.
- SAFE, S. - Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): Biochemistry, toxicology and mechanism of action. **CRC Crit. Rev. Toxicol.**, **13**: 319-395, 1994.
- SMITH, A. G & CABRAL, J.R.P. - Liver-cell tumors in rats fed hexachlorobenzene. **Cancer Lett**, **11**: 169-172, 1980.
- STOHS, S.J.- Oxidative stress induced by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD). **Free Radical Biology & Medicine**, **9**: 79-90, 1990.

- THOMAS, P.T. & HINDSDILL, R.D. - Effects of polychlorinated biphenyls on the immune responses of rhesus monkeys and mice. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, **44**: 41-51, 1978.
- TSVETKOVA, T.; ANDONOVA, S.; ZVETKOVA, E.; BLAGOEVA, S. - Aspects of granulocyte function in workers professionally exposed to pesticides. **Int. Arch. Occup. Environ. Health.**, **64**(4): 275-279, 1992.
- VIDELA, L.A.; BARROS, S.B.M.; JUNQUEIRA, V.B.C. - Lindane-induced liver oxidative stress. **Free Rad. Biol. Med.**, **9**: 169-179, 1990.
- VOS, J. G.; FAITH, R.E.; LUSTER, M. I. - Immune alterations. In halogenated Biphenyls, Terphenyls, Naphthalenes, Dibenzodioxins and related products, edited by R. D. Kimbrough, pp. 248-254, 1980 ,Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- VOS, J.G.; MOORE, J.A.; ZINKL, J.G. - Toxicity of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in C57B1/6 Mice. **Toxicol Appl Pharmacol** , **29**: 229-241, 1974.
- VOS, J.G.; VAN LOGTEN, M.J.; KREESTENBERG, J.G.; KRUIZINGA, W. - Hexachlorobenzene induced stimulation of the humoral immune response in rats. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, **320**: 535-550, 1979.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Polychlorinated biphenyls and terphenyls. Geneva, WHO, 1993, p. 444-477.



X. Apêndice

Tabela 1. Níveis de HCB em trabalhadores expostos

	Nome	Tempo de (anos)	Níveis Séricos de HCB ($\mu\text{g/dl}$)	Idade (anos)
1	AAO	10	0,8	52
2	AAP	22	4,7	43
3	ABS	5	1,3	23
4	AC	7	1,5	33
5	AFSB	5	2,6	25
6	AJS	11	2,5	40
7	AJS	14	3,8	40
8	ALS	7	0,8	37
9	AM	17	5,6	49
10	ANN	17	5,1	53
11	AO	10	4,4	52
12	AOF	10	2,3	39
13	AS	4	1,2	33
14	BVPA	4	2,5	32
15	CAFV	17	6,4	47
16	CBS	5	2,9	28
17	CL	4	1,8	31
18	CLA	17	1,6	54
19	CSL	7	3,0	32
20	CV	6	1,4	41
21	EAS	6	2,3	40
22	EBS	4	3,1	24
23	ESS	17	1,2	44

cont.

cont. Tabela 1

	Nome	Tempo de (anos)	Níveis Séricos de HCB (µg/dl)	Idade (anos)
24	FAMF	16	3,4	40
25	FAQ	10	0,8	40
26	FCR	13	4,4	45
27	FVS	4	7,2	44
28	GSL	5	7,2	32
29	HLR	4	1,3	50
30	ICC	18	7,0	43
31	IDP	4	7,8	39
32	ISC	5	3,5	32
33	JAA	17	6,4	45
34	JAC	4	1,2	40
35	JAS	7	6,1	38
36	JAS	2	2,1	39
37	JCAS	11	1,0	46
38	JCB	10	8,1	39
39	JCG	3	1,3	30
40	JES	6	0,1	41
41	JJA	7	8,6	36
42	JN	6	0,7	40
43	JNF	13	1,8	39
44	JOS	4	1,4	28
45	JR	5	2,5	31
46	JRFL	25	6,8	47

cont.

cont. Tabela 1

	Nome	Tempo de (anos)	Níveis Séricos de HCB ($\mu\text{g/dl}$)	Idade (anos)
47	JRP	6	2,6	37
48	JRRG	17	4,3	49
49	JSBF	13	4,5	28
50	JSC	5	3,0	28
51	LCF	19	4,1	42
52	LCS	4	1,4	33
53	MAMS	7	0,8	36
54	MFS	18	2,4	43
55	MJS	4	5,1	28
56	MSS	13	4,5	25
57	MTSS	3	0,4	22
58	NP	7	0,5	55
59	NPE	21	3,2	41
60	NQM	13	0,8	35
61	OAC	17	7,3	45
62	PST	17	7,2	42
63	RPR	7	0,7	28
64	RRB	5	10,4	25
65	VAF	18	4,7	35
66	VDS	18	6,6	46
67	WASC	6	6,7	33
68	WC	8	9,0	45
69	WRS	6	1,5	34

Tabela 2. Níveis de HCB em ex-funcionários expostos

	<i>Nome</i>	<i>Tempo de Exposição (anos)</i>	<i>Níveis Séricos de HCB (µg/dl)</i>	<i>Idade (anos)</i>	<i>Tempo de Afastamento (anos)</i>	<i>Motivo do Afastamento</i>
1	AAP	22	4,7	43	2	aposentado
2	AFSB	5	2,6	25	1	demitido
3	AJS	11	2,5	40	3	demitido
4	ANN	17	5,1	53	3	aposentado
5	AOF	10	2,3	39	7	demitido
6	CLA	17	1,6	54	2	aposentado
7	FCR	13	4,4	45	5	demitido
8	HLR	4	1,3	50	3	demitido
9	JAA	17	6,4	45	3	aposentado
10	JAC	4	1,2	40	3	demitido
11	JRRG	17	4,3	49	2	aposentado
12	OAC	17	7,3	45	2	demitido
13	VDS	18	6,6	46	1	demitido
14	WRS	6	1,5	34	2	demitido

Tabela 3. Atividade fagocitária e lítica de neutrófilos frente ao antígeno *Candida albicans*

<i>Candida albicans</i>				
	Fagocitose		Lise	
	Controle	Compostos organoclorados	Controle	Compostos organoclorados
1	360	217	72,32	6,91
2	226	236	27,50	5,00
3	189	320	35,39	1,60
4	175	324	37,71	1,40
5	171	315	57,89	1,50
6	224	439	43,12	5,70
7	211	459	41,29	4,80
8	358	300	20,00	11,40
9	201	313	35,50	12,10
10	300	289	25,90	10,00
11	245	261	36,68	11,00
12	331	235	35,35	5,50
13	237	282	26,78	14,18
14	367	262	35,68	5,11
15	181	346	28,15	4,04
16	224	263	30,74	6,08
17	213	176	16,81	10,00
18	226	192	46,78	11,00
19	283	235	30,75	2,10
20	291	244	19,20	3,30
21	360	303	29,00	13,86
22	231	206	47,34	4,40
23	264	191	27,20	5,70
24	204	256	35,18	10,20
25	220	170	16,39	10,00
26	366	206	56,46	4,40
27	264	218	22,27	15,00
28	229	222	20,71	7,60
29	280	234	23,00	5,50
30	268	181	24,44	7,20
31	225	204	26,62	4,90
32	307	238	18,64	3,80
33	329	203	22,15	5,40
34	490	169	21,75	6,50
35	239	284	35,80	6,70
36	256	240	22,66	10,00
37	241	184	28,21	9,20
38	203	176	23,37	7,40
39	241	204	21,02	5,40

cont.

cont. Tabela 3

Candida albicans

Fagocitose			Lise	
	Controle	Compostos organoclorados	Controle	Compostos organoclorados
40	213	214	32,30	7,50
41	243	240	26,00	3,70
42	242	238	26,90	4,20
43	247	181	64,02	6,50
44	220	300	27,20	6,70
45	164	312	29,20	12,50
46	249	188	17,85	2,51
47	167	184	23,90	9,10
48	358	316	19,27	16,00
49	191	252	29,00	14,10
50	183	140	18,50	10,00
51	361	251	29,60	11,00
52	281	245	21,02	14,00
53	329	317	29,80	14,10
54	158	303	40,70	17,00
55	238	310	22,15	9,00
56	241	320	21,75	8,00
57	249	310	23,37	7,00
58	203	262	22,66	7,10
59	213	283	20,40	10,00
60	171	247	29,50	9,30
61	183	303	26,90	8,50
62	220	215	27,20	8,10
63	164	298	29,20	9,10
64	313	240	26,80	8,40
65	181	315	19,27	9,40
66	165	305	29,00	6,50

Valores de Referência

Fagocitose = 182,3 - 313,9

% lise = 18,6 - 40,8

Tabela 4. Atividade fagocitária e lítica de neutrófilos frente ao antígeno *Candida pseudotropicalis*

<i>Candida pseudotropicalis</i>				
	Fagocitose		Lise	
	Controle	Compostos organoclorados	Controle	Compostos organoclorados
1	148	243	22,40	4,10
2	153	291	13,00	4,26
3	136	288	22,00	2,80
4	150	238	20,60	3,20
5	193	267	8,70	3,30
6	182	391	13,90	4,30
7	244	430	25,00	5,80
8	236	347	16,50	6,90
9	251	385	8,70	6,20
10	213	350	9,00	8,00
11	271	372	17,40	9,00
12	156	232	24,30	3,40
13	213	331	33,80	6,60
14	347	261	15,50	2,01
15	147	260	23,10	3,00
16	155	193	14,50	5,61
17	228	234	18,60	6,83
18	233	233	10,20	5,51
19	166	274	14,20	2,31
20	271	188	16,20	6,40
21	138	229	10,70	3,10
22	236	229	16,60	1,30
23	424	234	15,50	4,70
24	213	186	32,00	2,70
25	271	318	17,40	6,60
26	223	205	19,30	2,90
27	341	170	33,80	3,50
28	261	155	15,50	5,80
29	185	153	28,69	2,60
30	311	240	14,66	6,25
31	352	259	23,75	3,10
32	148	252	24,86	6,70
33	242	216	16,07	2,80
34	265	240	27,32	3,30
35	174	179	35,94	2,80
36	145	192	17,76	4,70
37	153	172	18,11	2,30
38	160	181	18,39	2,20
39	168	275	10,34	10,10

cont.

cont. Tabela 4

<i>Candida pseudotropicalis</i>				
Fagocitose			Lise	
	Controle	Compostos organoclorados	Controle	Compostos organoclorados
40	152	273	22,22	3,30
41	250	247	17,50	3,20
42	179	226	28,94	2,60
43	352	225	22,34	4,00
44	216	263	27,32	2,70
45	233	148	20,40	2,00
46	196	162	28,00	3,70
47	168	176	21,00	6,25
48	290	260	15,40	4,60
49	255	250	16,69	4,00
50	319	260	14,30	6,00
51	166	188	28,50	3,15
52	256	253	16,60	4,10
53	294	208	14,00	7,00
54	271	144	24,48	5,10
55	213	143	15,50	5,00
56	424	171	33,80	3,20
57	236	392	19,30	6,63
58	251	270	17,40	9,96
59	207	266	24,30	9,02
60	492	161	14,80	5,25
61	16	180	10,36	2,10
62	256	253	16,60	2,00
63	301	196	14,00	3,20
64	319	275	28,50	3,70
65	356	252	14,32	3,50
66	186	249	11,00	6,80
67		242		5,20
68		253		4,30
69		162		5,54

Valores de Referência

Fagocitose = 151,8 - 313,6

% lise = 12,7 - 26,1

Tabela 5. Níveis séricos de imunoglobulinas em trabalhadores
expostos a compostos organoclorados

Trabalhadores	IgG (mg / dL)	IgM (mg / dL)	IgA (mg / dL)
1. ABS	1975	175	200
2. AC	2060	250	185
3. CLA	1300	230	185
4. AOF	2975	210	435
5. JRP	2500	340	275
6. JRFL	2150	150	255
7. AM	1700	290	220
8. WRS	1540	150	110
9. JCG	1725	130	208
10. WASC	910	100	390
11. CV	1925	385	275
12. EBS	2350	175	635
13. MAMS	1400	260	540
14. PST	2975	365	540
15. JN	1525	170	375
16. CL	910	125	200
17. LCF	1575	250	185
18. LCS	10	50	198
19. IDP	1985	158	237
20. RPR	1359	150	272
21. JES	1520	97	320
22. CST	1520	134	113
23. HLR	1805	150	254
24. JAC	1010	134	237
25. MTSS	1985	111	381
26. JMS	1576	126	320
27. DS	1576	97	186
28. ALS	1205	203	350
29. MJF	2920	396	494
30. MMM	1205	58	263
31. JSC	1632	175	340
32. FAMF	1106	228	186

continua

cont. Tabela 5

Trabalhadores	IgG (mg / dL)	IgM (mg / dL)	IgA (mg / dL)
33. OAC	1412	228	186
34. RRB	658	104	163
35. NSS	1466	219	127
36. LSN	1057	126	211
37. ISC	2501	219	310
38. JS	963	104	272
39. JAA	963	134	141
40. LCPA	1255	178	245
41. JCB	1057	158	330
42. JJA	1632	158	566
43. WC	1205	287	381
44. IBM	1412	150	141
45. VDS	1412	150	381
46. ICC	1412	257	228
47. NSS	784	142	240
48. JCAS	1412	166	282
49. FAC	2367	166	260
50. DSC	2637	362	554
51. FCL	1466	385	403
52. AAP	1205	362	186
53. AAO	1412	203	425

Valores de Referência:

IgG = 952 - 1538 mg/dL

IgM = 73 - 171 mg/dL

IgA = 153 - 359 mg/dL

Tabela 6. Função hepática dos trabalhadores expostos a compostos organoclorados

	Nome	Bilirrubinas			AST	ALT	GGT	ALP
		Direta	Total	Indireta				
1	AJS	0,24	0,96	0,72	12	13	11,7	22
2	CLA	0,12	0,72	0,60	6	22	13	44
3	AOF	0,24	0,6	0,36	7	16	18	40
4	JRP	0,14	0,72	0,58	38	83	38	61
5	JRFL	0,12	0,6	0,48	7	10	13	57
6	ABS	0,24	0,72	0,48	7	10	20	49
7	AM	0,24	0,72	0,48	6	12	13	67
8	JCG	0,12	0,48	0,36	9	7	20	28
9	WASC	0,12	0,36	0,24	7	8	17	56
10	AC	0,12	0,72	0,60	18	25	17	68
11	CV	0,24	0,72	0,48	7	16	17	44
12	EBS	0,24	0,48	0,24	9	10	20	24
13	MAMS	0,17	0,48	0,31	14	25	25	28
14	PSP	0,12	0,60	0,48	12	12	7	27
15	JN	0,12	0,84	0,72	15	10	24	72
16	CL	0,12	0,96	0,84	10	16	21	74
17	LCF	0,24	0,96	0,72	10	22	11,7	27
18	IDP	0,48	1,2	0,72	12	22	19,5	38
19	RPR	0,48	1,44	0,96	10	20	9	22
20	JES	0,72	1,68	0,92	12	16	8	14
21	AFSB	0,24	0,72	0,48	13	15	15,6	19
22	JNSL	0,24	0,72	0,48	14	18	19,5	40
23	JAS	0,24	0,60	0,36	10	10	15	30
24	MGL	0,24	0,96	0,72	14	25	28	49
25	CST	0,24	0,72	0,48	18	20	9,7	35
26	HLR	0,24	0,72	0,48	6	10	17,5	35
27	JAC	0,24	0,48	0,24	8	10	11,7	27
28	MTSS	0,72	1,68	0,96	10	16	27,3	32
29	JNTS	0,48	1,20	0,72	8	12	7,8	40
30	NQM	0,24	0,96	0,72	10	10	11,7	37

cont.

cont. Tabela 6

	Nome	Bilirrubinas			AST	ALT	GGT	ALP
		Direta	Total	Indireta				
31	JMS	0,24	0,72	0,48	10	10	7,8	27,5
32	DS	0,24	0,72	0,48	20	22	11,7	30
33	ALS	0,12	0,36	0,24	18	25	13,5	32
34	MJF	0,24	0,96	0,72	9	10	7,8	36
35	MMM	0,24	0,48	0,24	7	14	7,8	39
36	JSC	0,24	0,96	0,72	17	25	11,7	35,7
37	LSN	0,24	0,48	0,24	12	18	7,5	21
38	JNF	0,10	0,5	0,4	6	10	10	32
39	JRRG	0,24	0,60	0,36	48	36	7	39
40	AS	0,24	0,76	0,52	7	50	7	
41	ISC	0,24	0,48	0,24	9	8	7	36
42	JSBF	0,24	0,48	0,24	7	16	14	36
43	JS	0,12	0,48	0,36	9	10	14	28
44	JR	0,24	0,72	0,48	17	18	7	46
45	FAMF	0,20	0,50	0,30	7	16	15	58
46	OAC	0,24	0,96	0,72				
47	RRB	0,12	0,72	0,60	9	12	12	46
48	EAS	0,48	1,44	0,96	15	16	17,5	27
49	CBS	0,24	0,48	0,24	12	23	21	43
50	SNS	0,12	0,84	0,72	15	36	69	65
51	MSS	0,24	0,96	0,72	20	22	10	50
52	JAA	0,24	0,75	0,51	9	10	19	38
53	LCPA	0,12	0,36	0,24	10	12	14	38
54	JCB	0,24	0,72	0,48	6	12	9	36
55	VAF	0,24	0,48	0,24	4	7	7,5	32
56	MFS	0,12	0,84	0,72	28	76	28	61
57	GOS	0,20	0,45	0,25	4	8	10	30
58	BAS	0,20	1,20	1,00	7	8	15	29
59	ORSJ	0,40	1,00	0,60	32	75	21	42
60	CAM	0,10	0,20	0,10	10	16	24	55
61	JCP	0,30	0,72	0,36	24	22	14	44
62	HRS	0,24	0,84	0,60	14	18	15,6	27,5