

# **Biomonitorização citogenética *in situ*: um instrumento indicador de genotoxicidade ambiental**

**Angela Maria de Souza Bueno**

Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética  
– CCB – UFSC – SC.

Aceito para publicação em 21/02/2000

## **Resumo**

Perante a importância da detecção precoce de danos no material genético de populações naturais expostas a ambientes alterados por atividades humanas de um lado, e perante a falta de conscientização pública sobre as consequências da degradação progressiva do patrimônio biológico do país, o que dificulta o impulsionamento de políticas ambientais mais agressivas por parte dos agentes governamentais, de outro, discute-se a aplicabilidade dos métodos citogenéticos na biomonitorização *in situ* e seu valor como instrumento de avaliação do patrimônio gênico de populações sob impacto ambiental.

**Unitermos:** genotoxinas – biomonitorização *in situ* – parâmetros citogenéticos

## **Summary**

The importance of early detection of genetic damage in natural populations, living in environments which have been

altered by human activities, is evident. Beside this, in our country, the enforcement of aggressive environmental policies is deficient due to the lack of public conscience about the consequences of the progressive degradation of our biological resources. In view of this, the use of cytogenetic methods in *in situ* biomonitoring and its value as an instrument for evaluating the genetic pool of populations under environmental impact is discussed.

**Key words:** genotoxins – *in situ* biomonitoring – cytogenetic endpoints

## Introdução

A preocupação mundial com os efeitos das atividades humanas sobre o ambiente justificou, entre outras ações, a realização da Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento (CNUMAD), a Rio-92, onde foram assinados os mais importantes acordos ambientais globais da história da humanidade.

No Brasil, uma avaliação das ações após a CNUMAD foi realizada num encontro chamado Rio 92 Cinco Anos Depois ou Rio + 5 (Cordani et al., 1997).

De fato, apesar dos esforços e compromissos assumidos na CNUMAD, o noticiário diário, escrito e falado, demonstra que muito pouco tem sido feito quanto ao efetivo controle de impactos ambientais<sup>1</sup>, a diminuição da pobreza e ao uso sustentável de recursos naturais, no mundo todo.

---

1 No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (no seu artigo 10 da Resolução do CONAMA nº 1, de 23/01/86) "Considera impacto ambiental qualquer alteração das propriedades físicas, químicas ou biológicas do meio ambiente, causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam: 1) a saúde, segurança e o bem estar da população; 2) as atividades sociais e econômicas; 3) a biota; 4) as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente; 5) a qualidade dos recursos ambientais". (Custódio, 1991).



Especificamente no que tange a proteção da biodiversidade na Federação Brasileira, Fonseca (1997) cita que um dos objetivos propostos pela CNUMAD foi a identificação dos componentes da biodiversidade, sua monitorização e identificação de ameaças à sua integridade, além da organização e manutenção de bases de dados. Após a realização da conferência, as iniciativas em relação à biodiversidade tiveram avanços significativos, embora “exista um longo caminho a percorrer”. Esse mesmo autor coloca que dificuldades, tais como recursos financeiros escassos, com sinais de declínio, e falta de programas de conscientização pública sobre a importância do tema, o que dificulta o impulsionamento de políticas mais agressivas por parte dos agentes governamentais, são causas de um descompasso que é agravado pela progressiva deterioração do patrimônio biológico do país.

Apesar deste quadro de dificuldades, mas especialmente por causa dele, são discutidos a seguir alguns aspectos da aplicabilidade da biomonitorização *in situ*, em particular da biomonitorização citogenética *in situ*, como um instrumento de avaliação qualitativa e quantitativa do comprometimento do material genético de populações silvestres.

### **Mutagenicidade x genotoxicidade em populações silvestres**

Avaliar a exposição ambiental potencial a produtos químicos é de suprema importância para prevenir possíveis perigos por eles impostos à sobrevivência, desenvolvimento, reprodução e evolução dos organismos vivos. No entanto, as situações de aplicação e lançamento direto de substâncias químicas no ambiente (estressores químicos ambientais ou poluição química ambiental) também são dignas de preocupação, pelas mesmas razões já citadas, além da possibilidade da participação de organismos contaminados na cadeia alimentar onde o homem seja um possível consumidor.

Os estressores ambientais exercem seus efeitos sobre organismos de uma determinada área (localidade). No entanto, tal como Fox (1995) fez questão de lembrar, embora se saiba que os poluentes afetam direta ou indiretamente os organismos individuais, em termos ecotoxicológicos, pode-se dizer que os poluentes são motivos de preocupação por causa dos efeitos que provocam nas populações e, indiretamente, nas comunidades e ecossistemas. Na verdade, pode-se dizer que eles só terão algum significado ecológico ou evolutivo importantes quando forem detectados em nível populacional.

Dieter (1993) colocou a seguinte dúvida: existem poluentes ou classes de poluentes específicos (tais como os estressores químicos ambientais aqui mencionados) que influenciam os processos evolutivos? A essa questão, Le Blanc (1994) respondeu da seguinte maneira: processos evolutivos respondem a qualquer pressão seletiva exercida na população, independente do mecanismo toxicológico responsável por ela.

Gray (1989) salientou que métodos de estudo que possibilitem a detecção precoce dos efeitos populacionais de estressores químicos ambientais devem ser os selecionados na avaliação de áreas supostamente contaminadas, a fim de evitar o agravamento da contaminação e suas conseqüências indesejáveis.

Com relação aos desafios impostos pelo ambiente ao material genético dos organismos, McClintock (1984) ressaltou que existem "choques" que um genoma deve enfrentar repetidamente e para os quais ele tem uma resposta já programada; ela lembrou, entretanto, que existem desafios imprevistos para os quais os genomas atuais não estão precisamente programados para responder de modo adequado. Apesar disso, salientou, esses desafios são percebidos e os genomas podem responder a eles de modo discernível, porém o fazem de uma maneira nunca vista anteriormente. Pode-se dizer, então, que a poluição, em geral, e as genotoxinas, em particular, podem representar fatores de estresse



seletivo que conduzem a mudanças mais ou menos desestabilizadoras da composição genética das populações a curto, médio ou longo prazo.

Uma mudança na constituição genética pode ser vantajosa para certas populações, mas pode ser uma desvantagem para outras, inclusive para o homem, por exemplo: 1) indução de resistência (pesticidas), 2) aumento da virulência de patógenos, 3) alterações dos limites de infestação de uma forma patogênica (procura por novos hospedeiros) ou o aparecimento de novos tipos de vírus e 4) mudanças repentinas nas relações parasita-hospedeiro e predador-presa, em outras palavras, aumento da instabilidade do ecossistema (Würglers e Kramerers, 1992).

Perante o desafio de um estressor químico, as populações podem exibir quatro respostas diferentes: 1) em um extremo, não há resposta porque os indivíduos são resistentes ao estressor ou a exposição é muito rápida ou mínima; 2) no outro extremo, onde a população é extremamente sensível, ou a exposição é inexorável, há uma mortalidade total, resultando em extinção local; 3) sob condições de exposição crônica, o estresse pode ser acomodado por adaptação comportamental ou fisiológica, sem efeito aparente no crescimento, sobrevivência e reprodução; e 4) alternativamente, o estresse pode afetar diferencialmente vários genótipos dentro da população, resultando em eliminação progressiva dos indivíduos sensíveis e numa mudança da estrutura genética da população (Fox, 1995).

Reconhece-se atualmente que, apesar das diferenças de sensibilidade, os produtos genotóxicos podem danificar o material genético tanto de seres humanos como de outros organismos vivos. Nas populações silvestres, os efeitos adversos, decorrentes das alterações induzidas em células da linhagem germinativa, que conduzem a alterações na composição genética das populações, são de extrema importância para o ecossistema. As mudanças somáticas, porém, mesmo aquelas que conduzem à perda de



indivíduos, não chegam a ser críticas em populações com um bom potencial de reprodução. Apesar disso, a monitorização de mudanças genéticas em células somáticas (que por si só podem ser danosas) de organismos em seu habitat natural pode ser aplicado como indicador da presença indesejável de genotoxinas no ambiente.

Mutações espontâneas constituem a matéria prima para a evolução e especiação de todos os organismos vivos e têm permitido a sua sobrevivência e adaptação às mudanças ambientais, desde o surgimento da vida em nosso planeta. A ocorrência de alterações nas frequências de mutações, e de mudanças genéticas relacionadas, no “pool” gênico de espécies ou populações naturais, têm que ser avaliadas em relação ao “background” de mutações espontâneas.

Alguns exemplos bem conhecidos de seleção de fenótipos alterados (e conseqüentemente de genótipos), em resposta à poluição e ao estresse ambiental, são a resistência à contaminação por metais em plantas, a resistência a inseticidas e a resistência à malária em seres humanos. No entanto, a avaliação, em termos de significado ecológico, dos efeitos das genotoxinas em certos segmentos do ecossistema, não é uma tarefa fácil quando se trabalha com populações que sofrem pressão de seleção muito mais forte do que as populações humanas, como é o caso de populações silvestres (Sciler, 1982; Würglers e Kramers, 1992).

Sabe-se que a evolução dos organismos ocorre em resposta a mudanças ambientais e, enquanto que as mudanças ambientais devidas à poluição são geralmente reversíveis, as mudanças evolutivas são geralmente irreversíveis, conferindo ao ambiente uma herança que se estende além do destino do poluente no ambiente (LeBlanc, 1994).

Existem atualmente muitas evidências sugerindo que as atividades antropogênicas em grande escala podem, indiretamente, alterar os sistemas-suporte da vida na Terra, rompendo processos

genéticos, celulares e nutricionais essenciais (Fox, 1995). Colborn (1995) afirmou que os poluentes de grande interesse são aqueles que afetam processos moleculares e celulares que regulam o desenvolvimento, funções endócrinas e imunológicas. Embora ele não tenha explicitado, fica claro que as genotoxinas podem e devem ser consideradas poluentes de grande interesse. Sob o ponto de vista particular da preservação do patrimônio gênico, pode-se afirmar que o lançamento dessas substâncias no ambiente merece nossa preocupação especial e deveria ser evitado porque:

- 1) Sob exposições maciças (implicando em grandes aumentos na frequência de mutações) podem ocorrer efeitos desestabilizadores, geneticamente baseados, na adaptabilidade, assim como efeitos diretamente tóxicos. Estes podem incluir efeitos em células germinativas que podem afetar a capacidade reprodutiva de muitas espécies e conseqüentemente conduzir a um aumento da instabilidade do ecossistema (Würglers e Kramers, 1992).
- 2) Se, de um lado, aumentos mais modestos na frequência de mutações podem ser positivos, no sentido de aumentar a variabilidade genética e fornecer à população, a longo prazo, uma melhor chance de enfrentar situações de estresse futuras, de outro lado podem ser negativos, por aumentar a variabilidade genética de maneira rápida, o que pode, por exemplo, favorecer o aparecimento e dispersão de novos patógenos e conseqüentemente também contribuir para um aumento da instabilidade dos ecossistemas (Würglers e Kramers, 1992).
- 3) As mutações neutras, sem vantagem seletiva, podem ser fixadas na população e em seguida perdidas; se, contudo, o número dessas mutações exceder a capacidade da população de removê-las, um número crescente de tais mutações estará presente nessa população em qualquer momento. Assim, a introdução, por ação de genotoxinas, de um número elevado de mutações neutras, em segmentos populacionais do ecossistema, poderá levar a desequilíbrios de sua composição genética cujas conseqüências não se pode prever, nem com relação à respectiva população, nem ao ecossistema como um todo (Seiler, 1982).



- 4) A presença marcante de polimorfismos nas populações humanas tem sido revelada em todos os níveis de investigação, por exemplo, nos múltiplos sistemas de defesa orgânica contra agentes ambientais. A introdução descontrolada de genotoxinas no ambiente, sem dúvida aumenta a possibilidade de exposição humana a compostos desconhecidos, por fontes e rotas desconhecidas. Isso pode romper com o equilíbrio dos mecanismos de regulação gênica que controlam esses sistemas de defesa, alterando a susceptibilidade aos insultos ambientais. A ocorrência dessa situação indesejável não se restringe a nenhuma espécie em particular, mas é sua ocorrência na espécie humana que tem justificado a monitorização do ambiente em busca de genotoxinas (Williams, 1991; Würglers e Kramers, 1992).

Deste modo, perante um agente mutagênico, que pode ser por exemplo um fator de poluição ambiental, podemos esperar diferentes frequências e tipos de mutações entre os indivíduos a ele submetidos, sejam eles pertencentes à mesma espécie ou não. No entanto, para que as mutações possam desempenhar seu papel importante como fator evolutivo é preciso que tanto a frequência como os tipos de mutações por célula, por indivíduo, não destruam o potencial das células reterem estas alterações, que representam a matéria prima a ser aproveitada oportunisticamente pela seleção natural durante o processo de evolução, que ocorre em escala de tempo geológica.

Sendo assim, fica claro que embora as mutações sejam imprescindíveis para a manutenção da vida no nosso planeta, não podemos pensar que quanto mais mutações melhor, porque, se assim fosse, não teríamos as terríveis conseqüências de uma guerra ou de um acidente nuclear (Awa et al., 1987; Natarajan et al., 1991; Ramalho et al., 1991).

Em resumo, pode-se dizer que, em termos evolutivos, a variabilidade genética, originada através das mutações, é crítica e forma a base para a sobrevivência da vida no planeta, com suas inerentes necessidades de respostas adaptativas aos novos desafios ambientais (Williams, 1991). No entanto, a amplitude do impacto



que os mutagênicos podem causar (se é que causam algum) no equilíbrio e variabilidade peculiares de um ecossistema, é um assunto bastante polêmico e Seiler (1982) salientou a necessidade de serem realizados novos experimentos “a fim de tirar esta ciência – mutagênese ecológica – da infâmia da pura especulação e transformá-la numa disciplina científica digna de confiança”.

### **Monitorização, biomonitorização e biomonitorização *in situ***

Em seu sentido original, a palavra monitorização significa “medida contínua de uma variável no tempo”, e freqüentemente inclui comparações entre registros antigos e atuais de, por exemplo, pressão atmosférica, umidade, radioatividade, entre outros. Na esfera do saneamento ambiental e ocupacional há o conceito de monitorização ambiental, ou seja, medidas de exposições externas a agentes do ar, alimento, água. Essas medidas incluem avaliações de concentrações, quantidades, e intensidades (tanto contínua como descontinuamente), assim como de freqüências e durações das exposições. Além desses, há o conceito de monitorização biológica (biomonitorização), ou seja, medidas de exposições internas através da análise de um espécimen biológico (ex., um tecido alvo). Devido às suas características metodológicas, esse tipo de monitorização não pode ser realizado continuamente, mas deve ser feito num determinado momento e, se for possível, em momentos subseqüentes (Zielhuis, 1978). Às vezes, o termo biomonitorização contínua é empregado no sentido de esclarecer que repetidas avaliações têm sido feitas, em diferentes momentos (Schulte e Sweeney, 1995).

Monitorar os tipos e as quantidades de tóxicos que estão constantemente entrando no ambiente é, como salientou Root (1990), uma tarefa desanimadora. Apesar de todos os métodos analíticos disponíveis, coletar amostras suficientes no tempo certo continua sendo um obstáculo significativo para os cientistas

ambientais. No entanto, quando os produtos químicos perigosos entram no ambiente, eles são absorvidos pelos organismos que ali vivem e esses organismos podem, portanto, ser considerados como biomonitores. Níveis subletais acumulados dentro de seus tecidos podem fornecer uma medida da poluição integrada num determinado período de tempo, eliminando assim a necessidade de amostragem contínua e permitindo uma melhor e mais rápida avaliação de danos ambientais antes que eles possam vir a ter conseqüências sérias e indesejáveis para os seres humanos, de um lado, e para o ecossistema como um todo, de outro.

Fica claro, do exposto acima, que para monitorar um determinado ambiente, ou parte dele, pode-se, em resumo, fazer uso de duas estratégias:

- 1) monitorização ambiental – a mais clássica – que consiste em obter partículas do ar, da água ou do solo (parâmetros externos de exposição), preparar um extrato orgânico e investigá-lo em laboratório usando testes rotineiros de avaliação de genotoxicidade ou análise química;
- 2) biomonitorização – que consiste em “procurar” por efeitos genotóxicos em animais ou plantas – biomonitores – que podem estar expostos *in situ* no ambiente natural, isto é, sem a necessidade de preparo de concentrações anteriores ou procedimentos de extrações do meio (De Flora et al., 1991; Würigler e Kramers, 1992).

Essa “procura” é feita em tecidos-alvo, ou seus análogos – os espécimens de Zielhuis (1978) – através da análise de um marcador biológico de exposição ou biomarcador, que é selecionado de acordo com o que se pretende avaliar (Verbeck, 1995).

Marcadores biológicos são indicadores de eventos significantes que ocorreram em partes inacessíveis do corpo (ex., fígado e órgãos em desenvolvimento) e que podem ser medidos em tecidos acessíveis, como o sangue (Sexton et al., 1995). Eles



podem integrar exposições via múltiplas rotas (inalação, oral, dérmica), múltiplas fontes (ar do ambiente doméstico, do local de trabalho, dieta, água) e por todos os padrões de exposição (passado, atual, intermitente, contínuo). Até que ponto o marcador documenta os períodos específicos de exposição depende da farmacocinética do produto químico e da persistência do marcador na amostra biológica avaliada (espécimen), persistência essa que é função da taxa de renovação da amostra e dos processos de reparo (Perera e Whyatt, 1994).

A fim de justificar a necessidade de se realizarem estudos empíricos nos ecossistemas, Kimball e Levin (1984) salientaram que, embora a compreensão do modo como produtos químicos afetam o ecossistema seja essencial, tal objetivo pode ser proibitivamente caro no regime de testar produto por produto, e ressaltam a importância do estudo de espécies residentes, ecologicamente apropriadas para o teste biológico. Essas espécies podem ser escolhidas respeitando-se alguns critérios preestabelecidos tais como, as economicamente importantes, as recreacionalmente importantes, os grupos de espécies crípticas para a manutenção da estrutura e funcionamento do ecossistema, entre outros. No entanto, como também salientaram esses autores, não se deve esquecer o fato de que qualquer espécie tem seu valor intrínseco e a perda de qualquer uma delas contribui para o empobrecimento biótico.

Além disso, como ressaltou Kendall (apud Sandhu e Serres, 1989), o uso da vida silvestre na avaliação dos efeitos genotóxicos de dejetos perigosos fornece um método efetivo para determinar a ecotoxicidade, pois representa um sistema de advertência precoce do impacto potencial para a saúde humana. Colborn (1995) sugeriu que os efeitos observados nessas populações, desde o nível celular até o populacional, deveriam ser parte integrante da avaliação de risco ou dano à saúde humana.

Cairns Jr. (1980) fez algumas ressalvas com relação ao emprego do termo monitorização, na monitorização biológica.

Apesar disto, ele tem sido amplamente utilizado como sinônimo de “procura” ou avaliação de efeitos biológicos adversos decorrentes, principalmente, de atividades antropogênicas. Berge (apud Sandhu e Serres, 1989), entre outros, descreveu e ressaltou a utilidade da monitorização toxicológica *in situ* para quantificar os efeitos ecológicos de dejetos perigosos, sem no entanto ter-se preocupado com a relevância ou não das “questões semânticas” anteriormente levantadas por Cairns Jr. (1980) e outros.

Outros termos empregados na literatura<sup>2</sup>, tais como Mutagênese Ecológica (Seiler, 1982), Genética Toxicológica (Margolin, 1988), Ecogenética (Williams, 1991), Ecogenotoxicologia (Würglers e Kramers, 1992) referem-se, especificamente, a uma ciência, emergente no Brasil, cuja preocupação ou objeto de estudo é a qualidade ambiental, no que diz respeito ao comprometimento ou não do material genético dos organismos vivos (aquáticos ou terrestres, inclusive a espécie humana), expostos a impacto ambiental, provocado por genotoxinas imprópriamente lançadas ao meio ambiente, como consequência de diferentes atividades humanas.

Algumas populações locais de animais silvestres e subpopulações humanas são simpátricas. Portanto, a investigação de “danos” quimicamente induzidos nessas populações silvestres pode ajudar a identificar riscos potenciais para as subpopulações humanas. Além disso, as evidências obtidas por critérios epidemiológicos podem auxiliar os administradores ambientais a

---

2 **Ecogenética** – derivada da farmacogenética, dá ênfase às doenças resultantes das interações entre o material genético e os estímulos ambientais.

**Ecogenotoxicologia** – preocupa-se principalmente com os problemas que os danos genéticos induzidos podem trazer para a manutenção da integridade do ecossistema, da qual dependem a sobrevivência e reprodução das populações.

**Genética Toxicológica** – ciência que estuda a indução de danos herdáveis ao material genético por vários agentes tóxicos de interesse.

**Mutagênese Ecológica** – estudo dos efeitos dos mutagênicos químicos ambientais em populações silvestres.



determinar se uma ação preventiva ou reparadora deve ser iniciada (Fox, 1995).

Colborn (1995) ressaltou que as avaliações globais, abrangentes e balanceadas, tanto retrospectivas como prospectivas, dos efeitos causados pelos produtos químicos lançados no ambiente, são imperativas.

Quando se quer avaliar danos irreversíveis, suspeitos ou reconhecidamente patogênicos, resultantes de interação tóxica, tanto num tecido alvo como em algum análogo, pode-se utilizar um dos marcadores biológicos de efeito. Nessa categoria estão os biomarcadores citogenéticos, entre eles as aberrações cromossômicas (AC) e os micronúcleos (MN) (Perera e Whyatt, 1994; Albertini, 1994).

### **Biomonitorização citogenética *in situ***

Nos últimos anos muitos esforços têm sido feitos para desenvolver sistemas eficientes de detecção de genotoxinas no solo, ar, água e outros compartimentos do ambiente.

Os estudos das alterações citogenéticas, tanto *in vivo* como *in vitro*, principalmente na segunda metade do século XX, tornaram claro que elas podem resultar da ação de diferentes tipos de genotoxinas, através de vários mecanismos, nem todos já totalmente elucidados.

A suspeita inicial de que essas alterações pudessem estar associadas com transformações malignas é atualmente inquestionável. Na verdade a relação, já estabelecida, entre alterações citogenéticas específicas e tumorigênese é que tem justificado as avaliações genotóxicas dos novos produtos químicos industriais, tais como terapêuticos, antes de seu lançamento para o consumo (Tucker e Preston, 1996)

Além disso, os dados de toxicidade citogenética também têm sido utilizados tanto para monitorização ambiental (Hadnagy e Seemayer, 1991; Kligerman et al., 1993) como para a biomonitorização de populações humanas (Rabello et al., 1975; Agostini et al., 1996) ou de outras espécies (ex. Cristaldi et al., 1991; Bueno et al., 1992), expostas a supostas condições de genotoxicidade.

Particularmente com relação à biomonitorização citogenética de populações humanas, Piña-Calva et al. (1991) salientaram que, uma vez que as aberrações cromossômicas são marcadores biológicos não específicos, pois diversos tipos de exposição conduzem ao mesmo “endpoint”, elas podem ser consideradas como biomarcadores adequados para indicar perigos potenciais à saúde, num ambiente alterado por diversas fontes de poluição. Por outro lado, se levarmos em consideração que os perigos citados por Piña-Calva et al. (1991) podem afetar não só a saúde dos indivíduos, mas também a capacidade de reprodução e sobrevivência das populações a eles expostas, comprometendo assim a integridade dos ecossistemas (Würgler e Kramers, 1992), estaremos realçando o papel da determinação de frequências de danos cromossômicos como um excelente método de avaliação – biomonitorização – de danos citogenéticos *in situ*.

Esse tipo de biomonitorização já foi empregado por diferentes pesquisadores, utilizando diferentes espécies, em diferentes partes do mundo (Das e Nanda, 1986.; Hose et al., 1987; Brunetti et al., 1988; Cristaldi et al., 1990, 1991; Rubes et al., 1992; Bueno et al., 1992; De Flora et al., 1993; Ieradi et al., 1996; Hayashi et al., 1998; Bolognesi et al., 1999). Apesar disso, pode-se dizer que essa metodologia ainda é subutilizada, embora os problemas ambientais sejam globais e do conhecimento de todos.



## Considerações finais

Antes de iniciar um estudo de biomonitorização citogenética *in situ*, seja com que organismo for, é importante lembrar que o objetivo de um trabalho desta natureza é sobretudo avaliar se, no meio ambiente alterado por ação humana, seja para a industrialização, agricultura ou urbanização, o material genético dos organismos que ali vivem está sendo danificado em consequência da introdução de possíveis agentes genotóxicos. Os resultados obtidos com tal metodologia, embora relevantes, não pretendem, por si só, exercer a função de um diagnóstico ou prognóstico ambiental, nem de uma avaliação ambiental e nem tampouco orientar um plano ambiental. Eles podem, entretanto, contribuir como indicadores dentro de uma abordagem mais abrangente que inclua outros tipos de avaliações de impacto ambiental.

A fim de atingir o objetivo acima descrito é preciso, em primeiro lugar, identificar regiões de onde se possam obter tanto amostras de populações expostas a impacto ambiental, como de populações não expostas, provenientes de regiões com o mínimo de interferência humana, para que sejam estabelecidas as comparações.

Ocorre que no processo de alteração ambiental, principalmente por ação humana, podem ser caracterizados pelo menos três momentos: 1) o “antes”, 2) o “durante” e 3) o “depois”. Embora esta colocação seja óbvia, sua citação tem como objetivo reforçar a noção de que as complexas redes de interações de uma comunidade são bastante diferentes nos três momentos.

Pode – se, por exemplo, considerar o “antes” como um ecossistema estável, onde as interações estão ocorrendo de um modo dinâmico e harmônico, permitindo a atuação dos mecanismos de adaptação e dos mecanismos de auto-superação do ecossistema, levando-o à homeostase.

O “durante” pode ser considerado como o período no qual, em geral por interferência brusca do homem, as espécies, o meio físico e todas as interrelações previamente estabelecidas entre eles, vão passar por um intenso processo de transformação, que vai alterar mais ou menos drasticamente a homeostase anterior. Dependendo de algumas características dessa etapa, tais como intensidade, duração, sinergia e reversibilidade, as características do terceiro momento serão obviamente diferentes.

O processo de transformação supra citado causará um impacto ambiental e normalmente levará a uma nova situação de homeostase, aqui considerado como “depois”.

Normalmente, a ruptura de relações ambientais preestabelecidas produz impactos negativos. Pode-se admitir, porém, que existam casos que podem representar a introdução de novas relações ambientais resultando num impacto positivo. Desse modo pode-se dizer que os impactos ambientais afetam a estabilidade preexistente dos ciclos ecológicos fragilizando-a ou fortalecendo-a (Macedo, 1991).

Fica claro, portanto, que o ideal para alcançar o objetivo dos estudos *in situ* seria obter, para a amostra da população não exposta, animais provenientes de uma região com as características do “antes”, ou seja, de um ecossistema estável, onde as alterações cromossômicas encontradas representassem apenas o resultado do processo seletivo natural de todas as populações, e não da ação de alterações ambientais antropogênicas.

Uma outra consideração importante que merece destaque é que sejam estudadas ao menos duas populações simpátricas de cada local, e supostamente submetidas ao mesmo tipo de impacto, por exemplo: duas espécies de roedores, duas espécies de peixes, etc.

A importância dessa abordagem consiste no fato de que, se dentro de uma população a existência de variabilidade genética é



esperada, e portanto existe sim variabilidade de diferença de sensibilidade entre seus componentes aos estressores ambientais, entre espécies diferentes esta variação também existe (Meir et al., 1999). A avaliação que se faz da qualidade do ambiente em função destes parâmetros, estudando-se apenas uma espécie, pode tanto levar a uma subestimativa (no caso de espécies resistentes) como a uma superestimativa (no caso de espécies sensíveis) dos efeitos genotóxicos dos estressores ambientais. Obviamente nenhum dos dois resultados é desejável.

Tanto quando a preocupação em realizar este tipo de avaliação é poder extrapolar os dados obtidos para as populações humanas, como quando ela vai além disto e também consiste em investigar o comprometimento do patrimônio gênico das populações silvestres, uma avaliação de mais de uma espécie é, sem dúvida, o recomendável.

### **Agradecimentos**

Às doutoras Maria Nazareth Rabello-Gay (Instituto Butantan – SP) e Jeanete M. S. Agostini (BEG/UFSC- SC) pela leitura do original e sugestões.

### **Referências bibliográficas**

- Agostini, J. M. S.; Otto, P.A.; Wajntal, A. 1996. Chromosome damage in underground coal miners: detection by conventional cytogenetic techniques and by submitting lymphocytes of unexposed individuals to plasma from at-risk groups. **Rev. Brasil. Genet.**, 19(4): 641-646.
- Albertini, R. J. 1994. Why use somatic mutation for human biomonitoring? **Environ. Mol. Mutagen.**, 23(Suplemento 24):18-22

- Awa, A. A.; Honda, T.; Neriishi, S.; Sufuni, T.; Shimba, H.; Ohtahi, K.; Nakano, M.; Kodama, Y.; Itoh, M.; Hamilton, H. B. 1987. Cytogenetic study of the offspring of atomic survivors, Hiroshima and Nagasaki. In: Obe, G. & Basler, A. (eds.) **Cytogenetics Basic and Applied Aspects**. Alan R. Liss, New York, p. 433-453.
- Bolognesi, C.; Landini, E.; Roggieri, P.; Fabbri, R.; Viarengo, A. 1999. Genotoxicity biomarkers in the assessment of heavy metal in mussels: Experimental studies. **Environ. Mol. Mutagen.**, **33**: 287-292.
- Brunetti, R.; Majone, F.; Gola, I.; Beltrame, C. 1988. The micronucleus test: examples of application to marine ecology. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, **44**: 65-68
- Bueno, A. M. S.; Agostini, J. M. S.; Gaidzinski, K.; Moreira, J.; Brognoli, I. 1992. Frequencies of chromosomal aberrations in rodents collected in the coal-field and tobacco culture region of Criciúma, South Brasil. **Journ. Toxicol. Environ. Health**, **36**: 91-102.
- Cairns Jr., J. 1980. Estimating hazard. **Bioscience**, **30**(2):101-107.
- Colborn, T. 1995. Statement from the work session on environmentally induced alterations in development: a focus on wildlife. **Environ. Health Perspect.**, **103**(Suplemento 4): 3-5.
- Cordani, U. G.; Marcovitch, J.; Salati, E. 1997. Avaliação das ações brasileiras em direção ao desenvolvimento sustentável após a Rio-92. In: Nogueira-Neto, P. (ed.). **Rio 92 Cinco Anos Depois**. Alphagraphics, São Paulo:, p. ix-xix.
- Cristaldi, M.; D'arcangelo, E.; Ieradi, A.; Mascanzoni, D.; Mattei, T.; Castelli, I. V. A. 1990. <sup>137</sup>Cs determination and mutagenicity tests in wild *Mus musculus domesticus* before and after the Chernobyl accident. **Environ. Pollut.**, **64**: 1-9.
- Cristaldi, M.; Ieradi, L. A.; Mascanzoni, D.; Mattei, T. 1991. Environmental impact of the Chernobyl accident: mutagenesis



- in bank voles from sweden. **Int. J. Radiat. Biol.**, **59**(1): 31-40.
- Custódio, H. B. A 1991. A legislação brasileira do estudo de impacto ambiental. *In*: Tauk, S. M. (ed.). **Análise Ambiental: Uma Visão Multidisciplinar**. UNESP, São Paulo, p. 37-59.
- Das, R. K.; Nanda, N. K. 1986. Induction of micronuclei in peripheral erythrocytes of fish *Heteropneustes fossilis* by mitomycin C and paper mill effluent. **Mutat. Res.**, **175**: 67-71.
- De Flora, S.; Bagnasco, M.; Zancchi, P. 1991. Genotoxic, carcinogenic and teratogenic hazards in the marine environment, with special reference to the Mediterranean Sea. **Mutat. Res.**, **258**: 285-320.
- De Flora, S.; Viganò, L.; Agostini, F. D.; Camoirano, A.; Bagnasco, M.; Bennicelli, C.; Melodia, E.; Arillo, A. 1993. Multiple genotoxicity biomarkers in fish exposed *in situ* to polluted river water. **Mutat. Res.**, **319**: 167-177.
- Dieter, M. P. 1993. Identification and quantification of pollutants that have the potential to affect evolutionary processes. **Environ. Health Perspect.**, **101**: 273.
- Fonseca, G. A. B. 1997. A proteção à biodiversidade na federação brasileira após a Rio-92 *In* Nogueira-Neto, P.(ed.). **Rio 92 Cinco Anos Depois**. Alphagraphics, São Paulo, p.173-178.
- Fox, G. A. 1995. Tinkering with the tinkerer: pollution versus evolution. **Environ. Health Perspect.**, **103**(Suplemento 4): 93-100.
- Gray, J. S. 1987. Effects of environmental stress on species rich assemblages. **Biological Journal Of The Linnean Society**, **37**: 19-32.
- Hadnagy, W.; Seemayer, N. H. 1991. *In vitro* cytogenetic assays for the detection of mitotic aneuploidy by particulate pollutants. **Toxic. In Vitro**, **5**(5/6): 507-510.

- Hayashi, M.; Ueda, K.; Wada, K.; Kiane, N.; Saotome, K.; Tanaka, M.; Takai, A.; Sasaki, Y. F.; Asano, N.; Sofuni, T.; Ojima, Y. 1998. Development of genotoxicity assay systems that use aquatic organisms. **Mutat. Res.**, **399**: 125-133.
- Hose, J. L.; Jeffrey, N. C.; Smith, S. G.; Dario, D. 1987. Elevated circulating erythrocyte micronuclei in fishes from contaminated sites of Southern California. **Marine Environ. Res.**, **22**: 167-176.
- Ieradi, L. A.; Cristaldi, M.; Mascanzoni, D., Cardarelli, E.; Grossi, R.; Campanella, L. 1996. Genetic damage in urban mice exposed to traffic pollution. **Environ. Pollut.**, **92(3)**: 323-328.
- Kimbal, K. D.; Levin, S. A. 1985. Limitations of laboratory bioassays: the need for ecosystem-level testing. **Bioscience**, **35(3)**: 165- 171.
- Kligerman, A. D; Chapin, R.E.; Erexson, G. L.; Germolec, D. R.; Kwanuyen, P.; Yang, R. S. H. 1993. Analyses of cytogenetic damage in rodents following exposure to simulated groundwater contaminated with pesticides and a fertilizer. **Mutat. Res.**, **300**: 125-134.
- Leblanc, G. A. 1994. Assessing deleterious ecosystem-level effects of environmental pollutants as a means of avoiding evolutionary consequences. **Environ. Health Perspect.**, **102**: 266-267.
- Macedo, R. K. 1991. Equívocos e propostas para a avaliação ambiental. *In*: Tauk, S.M. **Análise Ambiental: Uma Visão Multidisciplinar**. UNESP, São Paulo, p. 27-36.
- Margolin, B. H. 1988. Statistical aspects of using biologic markers. **Statistical Science**, **3(3)**: 351-357.
- Meier, J. R., Wernsing, P. Tosella, J. 1999. Feasibility of micronucleus methods for monitoring genetic damage in two feral species of small mammals. **Environ. Molec. Mutagenesis**, **33**: 219-225.



- McClintock, B. 1984. The significance of responses of the genome to challenge. **Science**, **226**: 792-801.
- Natarajan, A. T.; Vyas, R.C.; Wiegant, J.; Curado, M. P. 1991. A cytogenetic follow-up study of the victims of a radiation accident in Goiania (Brazil). **Mutat. Res.**, **252**: 157-160.
- Perera, F. P.; Whyatt, R. M. 1994. Biomarkers and molecular epidemiology in mutation/ cancer research. **Mutat. Res.**, **313**: 117-129.
- Piña-Calva, A.; Madrigal-Bujaidar, E.; Fuentes, M. V.; Neria, P.; Perez-Lucio, L.; Velez-Zamora, N. M. 1991. Increased frequency of chromosomal aberrations in railroad car painters. **Arch. Environ. Health**, **46**(6): 335-339.
- Rabello, M. N.; Beçak, W.; Almeida, W. F.; Pigati, P.; Ungaro, M. T.; Murata, T.; Pereira, C. A. 1975. Cytogenetic studies on individuals occupationally exposed to DDT. **Mutat. Res.**, **28**: 449-454.
- Ramalho, A. T.; Nascimento, A. C.H.; Littlefield, L. G.; Natarajan, A. T.; Sasaki, M. S. 1991. Frequency of chromosomal aberration in a subject accidentally exposed to <sup>137</sup>Cs in the Goiania (Brazil) radiation accident: intercomparasion among four laboratories. **Mutat. Res.**, **252**: 157-160.
- Root, M. 1990. Biological monitors of pollution. **Bioscience**, **40**(2): 83-86.
- Rubes, J.; Borkovec, L.; Horínová, Z.; Urbanová, J.; Troroková, I.; Kuloková, L. 1992. Cytogenetic monitoring of farm animals under conditions of environmental pollution. **Mutat. Res.**, **283**: 199-210.
- Sandhu, S. S.; Serres, F. J. 1989. *In situ* evaluation of biological hazards of environmental pollutants. **Mutat. Res.**, **216**: 341-352.
- Schulte, P. A.; Sweeney, M. H. 1995. Ethical considerations, confidentiality issues, rights of human subjects, and uses of

- monitoring data in research and regulation. **Environ. Health Perspect.**, **103**(Suplemento 3): 69-74.
- Seiler, J. P. 1982. The ecological impact of environmental mutagens. **Mutat. Res.**, **97**: 220-221.
- Sexton, K.; Callahan, M. A.; Bryan, E. F. 1995. Estimating exposure and dose to characterize health risks: the role of human tissue monitoring in exposure assessment. **Environ. Health Perspect.**, **103**(Suplemento 3): 13-29.
- Tucker, J.D.; Preston, R. J. 1996. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assesment. **Mutat. Res.**, **365**: 147-159.
- Verbek, M. M. 1995. Biomarkers of exposure versus parameters of external exposure; practical applications in estimating health risks. **Toxicology**, **101**: 107-115.
- Williams, A. 1991. Ecogenetics, xenobiotic biochemistry and neurological disease. **J. Neurol.**, **238**: 187-190.
- Würgler, F. E.; Kramers, P. G. N. 1992. Environmental effects of genotoxins (eco-genotoxicology). **Mutagenesis**, **7**(5): 321-327.
- Zielhuis, R. L. 1978. Biological monitoring. **Scand. J. Work Environ. & Health**, **4**: 1-18.