

A EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL LEVA A DANOS GENÉTICOS EM TRABALHADORES DA LAVOURA DE FUMO.

Caroline Cardoso Nicolau¹, Vivian Kahl² e Juliana da Silva³.

¹ Aluna do curso de Graduação de Biomedicina, ULBRA- Bolsista PIBIT/CNPq; ² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação de Biologia Celular e Molecular Aplicada a Saúde (PPGBioSaúde), ULBRA – Bolsista PROSUP/CAPES; ³ Professora do curso de Graduação de Ciências Biológicas e do PPGBioSaúde, ULBRA; ⁴ Laboratório de Genética Toxicológica, PPGBioSaúde, ULBRA

Introdução

Os trabalhadores de diferentes áreas ocupacionais estão diariamente expostos a uma diversidade de fatores ambientais que podem prejudicar a sua saúde. No Brasil, o setor fumageiro exerce grande importância nas atividades econômica e social no país. Na fumiicultura os indivíduos estão expostos a agroquímicos sintéticos e a nicotina (presente na folha do fumo) que constituem um potente efeito tóxico a esses agricultores. A exposição aguda e crônica aos agrotóxicos pode causar diversas doenças, como vários tipos de câncer, lesões hepáticas, lesões renais, distúrbios do sistema nervoso, esterilidade masculina, reações alérgicas, entre outras. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar os produtores de fumo cronicamente expostos a baixas doses de agroquímicos e nicotina em relação aos possíveis efeitos genotóxicos decorrentes da exposição ocupacional, através do Ensaio Cometa (EC) alcalino e modificado com enzimas.

Metodologia

Para esse estudo foram avaliados 101 indivíduos das cidades de Santa Cruz do Sul e Sobradinho (RS). Desses, 53 indivíduos eram expostos e 48 indivíduos controles. A média de idade do grupo controle foi de 40,9 ($\pm 12,4$; desvio padrão, DP) anos e do grupo exposto 49,5 ($\pm 13,6$) anos, com média de 24,5 ($\pm 16,1$) anos de trabalho na lavoura de fumo. Questões de saúde pessoal e relacionadas ao tempo e a forma de exposição, assim como amostras de sangue periférico, foram coletadas. Esse projeto faz parte de um doutorado aprovado pelo CEP da ULBRA e pelo CONEP sob número de protocolo 35639814.5.0000.5349. Foi utilizado o Ensaio Cometa alcalino e o modificado, com as enzimas FPG e OGG1. O Ensaio Cometa é um teste utilizado para detectar dano e possível reparo no DNA de células. As lâminas são preparadas e submetidas a eletroforese, após coradas e observadas em microscopia óptica (Figura 1). A análise foi realizada em 100 células por tratamento (50 por lâmina), utilizando microscópio óptico, onde as células foram classificadas em cinco diferentes classes de danos de acordo com o tamanho da cauda, sem danos (classe 0) até o dano máximo (classe 4) (Figura 2). Os resultados são expressos em índice de danos, com unidades arbitrárias.

Resultados

Os resultados obtidos pelo Ensaio Cometa mostraram que não houve diferença significativa entre indivíduos expostos e controles, tanto para o teste alcalino ($P= 0,08$), quanto com FPG ($P= 0,25$) (Tabela 1). Porém, quando comparamos as diferenças de tratamentos para os mesmos grupos (controle alcalino x controle FPG e exposto alcalino x exposto FPG), há aumento significativo do índice de danos quando as lâminas são tratadas com FPG ($P < 0,0001$; Tabela 1).

Quando comparados os tipos de tratamentos das lâminas apenas dos indivíduos expostos, tanto o tratamento com FPG quanto com OGG1 apresentaram índice de danos significativamente maiores do que o índice de danos do teste alcalino ($P < 0,0001$). O tratamento FPG também foi significativamente maior do que OGG1 ($P < 0,0001$; Figura 3).

Quinze indivíduos expostos foram coletados em duas épocas da safra: aplicação de agroquímicos (plantio) e colheita. Os resultados obtidos pelo Ensaio Cometa alcalino e modificado mostraram que não há diferença significativa, independente se a coleta de sangue foi feita na época de aplicação de agroquímicos ou de colheita da folha de fumo (exposição a nicotina). Ainda assim, podemos observar um aumento de índice de danos na época de colheita, quando o indivíduo está exposto a nicotina, comparando com a aplicação de agroquímicos, para ambos os tratamentos (Figura 4).

Discussão

Os danos ao DNA causados pelos agroquímicos e pela nicotina são significativamente mais evidentes quando as lâminas são tratadas com FPG, mostrando assim, que esses danos são de origem oxidativa. Tanto os agroquímicos sintéticos quanto a nicotina já são conhecidos na literatura como causadores de estresse oxidativo, justificando os resultados obtidos nesse estudo. Acreditamos que não houve aumento significativo de danos ao DNA no tratamento alcalino em decorrência do tamanho amostral para esse estudo ou então que o dano primordial nessa exposição ocupacional é realmente de origem oxidativa.

É comum que o tratamento com OGG1 apresente um índice menor de danos do que o tratamento com FPG, pois a OGG1 representa apenas os danos da guanina, enquanto a FPG representa tanto a guanina quanto a adenina.

Apesar de agroquímicos e nicotina apresentarem alguns mecanismos diferentes de indução de danos ao DNA, não encontramos diferença significativa para genotoxicidade em duas diferentes épocas da safra. Ainda assim, mesmo de forma não significativa, os indivíduos coletados em época de colheita apresentaram aumento de danos. Este dado coincide com um resultado recente da literatura que observou aumento significativo de danos na época de colheita das folhas do tabaco. Para resultados ainda mais precisos estamos aumentando o número amostral das coletas nas diferentes etapas da safra e ainda, incluir entre as análises a entressafra.

Diante dos resultados obtidos nesse estudo, há evidências de danos genotóxicos devido à exposição ocupacional ao longo prazo por agroquímicos sintéticos e nicotina e que esses danos são principalmente decorrentes de fatores oxidativos. Portanto, torna-se cada vez mais evidente que essas populações precisam ser biomonitoradas e que o uso de equipamento de proteção individual (EPI) na sua forma completa é imprescindível.

Tabela 1. Resultados do Ensaio Cometa alcalino e modificado com enzima FPG para os grupos controle e exposto (resultados expressos em média \pm erro padrão; teste Mann-Whitney)

Grupos	Ensaio Cometa	
	Alcalino	FPG
Controle (n= 48)	10,10 \pm 1,35	40,77 \pm 3,62 ^a
Exposto (n= 53)	7,14 \pm 1,05	45,94 \pm 3,72 ^a

^a $P < 0,0001$ em relação ao teste alcalino, no mesmo grupo.

Figura 2. Classes de danos ao DNA que podem ser visualizadas no Ensaio Cometa.

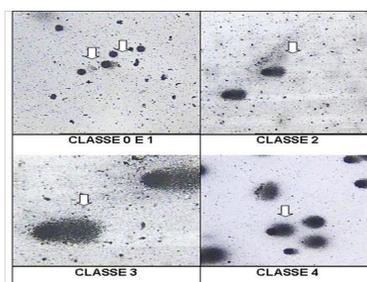


Figura 1. Esquema com a metodologia do Ensaio Cometa alcalino e modificado com enzimas.

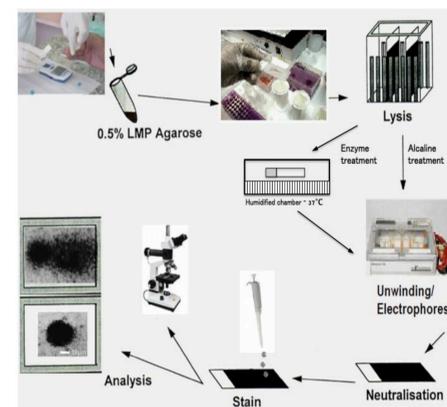


Figura 3. Resultados para o Ensaio Cometa dos indivíduos expostos com relação ao teste alcalino e modificado com enzimas FPG e OGG1 (média \pm erro padrão; teste Mann-Whitney).

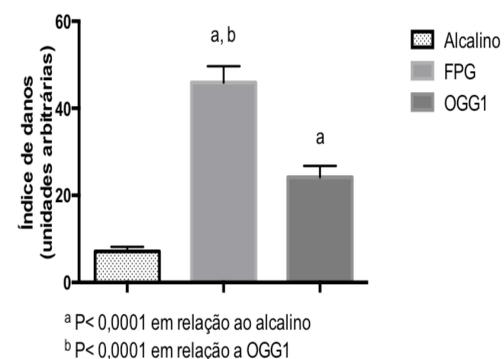


Figura 4. Resultados para o Ensaio Cometa de indivíduos expostos (n= 15) com relação ao teste alcalino e modificado com enzimas FPG, em duas diferentes épocas da safra: aplicação de agroquímicos e colheita, com exposição a nicotina (média \pm erro padrão; teste Mann-Whitney).

