



INSTABILIDADE GENÔMICA EM FUMICULTORES GAÚCHOS ASSOCIADA A POLIMORFISMOS DE GENES DE METABOLIZAÇÃO E DE REPARO POR EXCIÇÃO DE BASE

Juliana Picinini; Vivian Kahl; Daniel Simon; Juliana da Silva

INTRODUÇÃO:

Embora importante para a economia do Brasil, a cultura do tabaco oferece riscos à saúde dos agricultores pela exposição ocupacional aos agroquímicos e nicotina, sendo responsável pela incidência de diversas doenças. Os agroquímicos são necessários a fim de fornecer proteção às lavouras, entretanto, são aplicados sob a forma de misturas complexas através de bombas costais e muitas vezes sem a devida proteção. Ainda, a nicotina presente na superfície das folhas de tabaco pode ser absorvida através da pele quando esta entra em contato com a folha úmida, sendo que o aumento dos níveis de cotinina (metabólito da nicotina) pode culminar na Doença da Folha Verde, a qual é caracterizada por uma intoxicação aguda.

OBJETIVOS:

Avaliar a presença de danos ao DNA em um grupo de indivíduos expostos aos agroquímicos e à nicotina nas lavouras de tabaco (fumicultores) e em um grupo de indivíduos não expostos. Esses dados foram correlacionados com a suscetibilidade individual quanto aos polimorfismos de *XRCC1*, *OGG1* e *PON1*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O grupo exposto apresentou aumento significativo dos elementos inorgânicos (Cl, P, S e Zn), assim como maiores níveis séricos de cotinina, quando comparados ao grupo não exposto, confirmando a exposição (biomarcadores de exposição aos agroquímicos e folha de tabaco). Estes elementos são reconhecidos por causarem danos ao DNA, sendo um dos principais mecanismos a indução de estresse oxidativo. Houve um aumento significativo na instabilidade genômica, indicada pelos maiores índices de MN (homens e mulheres) e BN (mulheres) no grupo exposto, em comparação com o grupo não exposto (Tabela 1). A presença de MN indica danos ao DNA, por perda de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros durante a divisão nuclear, enquanto que BN ocorrem devido falhas na citocinese. Em relação à influência dos polimorfismos, dentro do grupo exposto foi observado aumento significativo de MN influenciado pelo *PON1 Gln/Gln* (Tabela 2), quando comparados aos fumicultores com genótipos *PON1 Gln/Arg* ou *Arg/Arg*, demonstrando um efeito de “risco” aos indivíduos portadores desse genótipo. Estudos indicam que este gene desempenha um papel relevante no metabolismo de certos organofosforados e modula sua toxicidade aguda. Por fim, ao avaliar os polimorfismos de genes de reparo ao DNA (via BER), dentro do próprio grupo exposto, observou-se redução significativa de MN e BN em indivíduos com genótipo *XRCC1 Arg/Arg*, demonstrando efeito protetor, quando comparados aos fumicultores que eram *XRCC1 Arg/Trp* ou *Trp/Trp* (Tabela 3).

METODOLOGIA:

Foram avaliados 121 trabalhadores agrícolas ocupacionalmente expostos a misturas de agroquímicos e à nicotina em campos de tabaco (grupo exposto) e 121 indivíduos não expostos, ambos da região do Vale do Rio Pardo – RS, sendo pareados por gênero e idade. As amostras de sangue foram coletadas por punção venosa. Foram medidos os níveis de cotinina por HPLC-UV, e os elementos inorgânicos por meio de PIXE. Foi realizado o Teste de Micronúcleos de Mucosa Oral, analisando-se a frequência de células Binucleadas (BN) e com Micronúcleos (MN) (Figura 1). O DNA genômico foi extraído pelo método de *salting-out*. Os polimorfismos *PON1*, *XRCC1* e *PON1* foram genotipados por PCR-RFLP e os fragmentos foram separados por eletroforese utilizando um gel de poliácridamida, o qual foi corado com nitrato de prata.

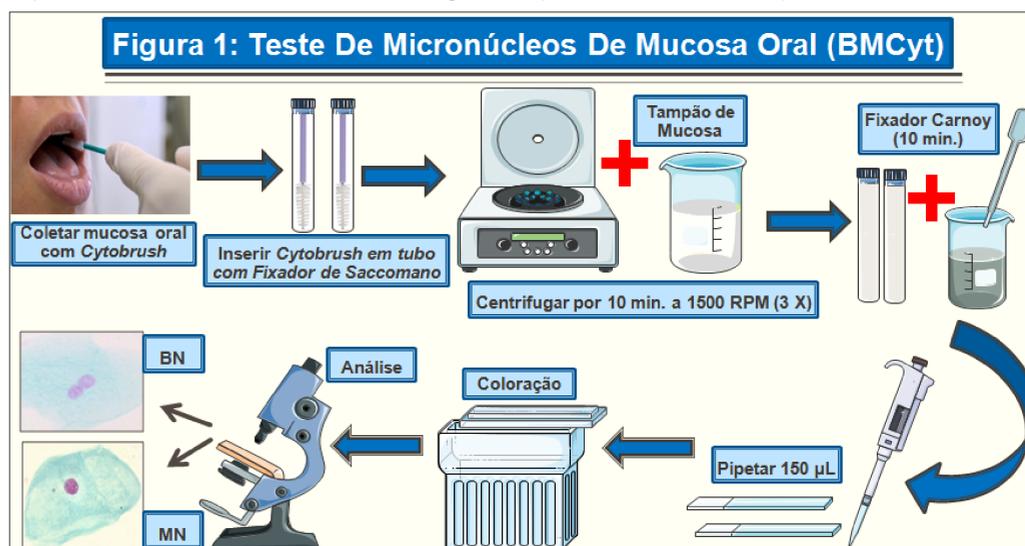


Tabela 1: Parâmetros de instabilidade genômica avaliados pelo teste BMCyt, para grupos não exposto e exposto, analisados em 2.000 células / indivíduo (média desvio padrão)

Parâmetros do BMCyt	Não exposto (n= 121)	Exposto (n= 121)	Valor de p ^a
Micronúcleos (MN)	1,2 ± 0,1	4,8 ± 0,5	< 0,001
Homens	1,3 ± 0,1	5,3 ± 0,7	< 0,001
Mulheres	1,2 ± 0,2	4,1 ± 0,5	< 0,001
Valor de p ^b	0,784	0,215	
Células Binucleadas (BN)	5,4 ± 0,4	7,2 ± 0,5	0,010
Homens	7,2 ± 1,0	5,4 ± 0,6	0,804
Mulheres	5,3 ± 0,4	7,8 ± 0,7	0,005
Valor de p ^b	0,663	0,019	

^a Valor de p entre grupos não expostos e expostos; teste t não pareado; ^b valor de p entre indivíduos do sexo masculino e feminino dentro de cada grupo; Teste de Mann-Whitney

CONCLUSÕES:

Verifica-se evidências de danos genotóxicos devido à exposição ocupacional ao longo prazo por agroquímicos e à nicotina nas lavouras de tabaco. Ainda, nosso estudo evidencia que os genótipos *PON1 Gln/Gln* e *XRCC1 Trp/-* afetam o aumento na frequência de células micronucleadas, o qual tem relação com o aumento de risco no desenvolvimento de câncer.

REFERÊNCIAS:

DA SILVA, F. R.; DA SILVA, J.; NUNES, E.; BENEDETTI, D.; KAHL, V.; ROHR, P.; ABREU, M. B.; THIESEN, F. V.; KVIKTO, K., Application of the Buccal Micronucleus Cytome Assay and Analysis of *PON1Gln192Arg* and *CYP2A6*9* (248T>G) Polymorphisms in Tobacco Farmers, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 53, n. 7, p. 525-534, ago. 2012.
 HERNÁNDEZ, A. F.; PARRÓN, T.; TSATSAKIS, A. M.; REQUENA, M.; ALARCÓN, R.; LÓPEZ-GUARNIDO, O. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health, *Toxicology*, v. 307, p. 136-145, mai. 2013.
 THOMAS, P.; HOLLAND, N.; BOLOGNESI, C.; KIRSCH-VOLDERS, M.; BONASSI, S.; ZIEGER, E.; KNASMUELLER, S.; FENECH, M. Buccal micronucleus Cytome assay, *Nature Protocols*, v. 4, n. 6, p. 825-837, mai. 2009.

Tabela 2: Efeitos dos genótipos de metabolismo do polimorfismo *PON1 Gln192Arg* sobre os parâmetros do BMCyt avaliados em grupos não exposto e exposto (média desvio padrão)

Parâmetros do BMCyt	<i>PON1 Gln192Arg</i>		Valor de p ^a
	<i>PON1 Gln/Gln</i>	<i>PON1 Gln/Arg</i> ou <i>Arg/Arg</i>	
Micronúcleos (MN)			
Não Exposto	1,19 ± 0,2	1,12 ± 0,1	0,818
Exposto	6,26 ± 0,7	3,80 ± 0,6	0,013
Células Binucleadas (BN)			
Não Exposto	5,63 ± 0,5	6,70 ± 0,8	0,953
Exposto	6,62 ± 0,7	8,10 ± 0,8	0,191

^a valor de p entre genótipos do polimorfismo; teste t não pareado

Tabela 3: Efeitos dos genótipos de reparo dos polimorfismos *OGG1 Ser326Cys* e *XRCC1 Arg194Trp* em parâmetros do BMCyt avaliados em grupos não exposto e exposto (média desvio padrão)

Parâmetros do BMCyt	<i>OGG1 Ser326Cys</i>		Valor de p ^a	<i>XRCC1 Arg194Trp</i>		Valor de p ^a
	<i>OGG1 Ser/Ser</i>	<i>OGG1 Ser/Cys</i> ou <i>Cys/Cys</i>		<i>XRCC1 Arg/Arg</i>	<i>XRCC1 Arg/Trp</i> ou <i>Trp/Trp</i>	
Micronúcleos (MN)						
Não Exposto	0,53 ± 0,1	0,95 ± 0,2	0,056	1,22 ± 0,1	0,62 ± 0,2	0,103
Exposto	5,71 ± 0,7	5,21 ± 0,8	0,670	4,22 ± 0,5	7,23 ± 1,1	0,044
Células Binucleadas (BN)						
Não Exposto	6,46 ± 0,7	5,38 ± 0,7	0,333	5,93 ± 0,5	7,31 ± 1,7	0,896
Exposto	8,01 ± 0,7	6,93 ± 0,9	0,376	6,20 ± 0,5	10,33 ± 1,2	0,003

^a Valor de p entre genótipos dentro de cada polimorfismo; teste t não pareado