



AVALIAÇÃO DA INSTABILIDADE GENÔMICA APRESENTADA POR PRODUTORES DE TABACO EXPOSTOS À NICOTINA E AGROQUÍMICOS

Juliana Picinini, Vivian F. S. Kahl, Daniel Simon, Juliana da Silva
Laboratório de Genética Toxicológica- ULBRA

INTRODUÇÃO:

Embora seja extremamente importante para a economia do Brasil, a fumicultura exerce um risco à saúde dos agricultores devido à exposição ocupacional aos agroquímicos e à nicotina nas lavouras de tabaco.

OBJETIVOS:

Avaliar a instabilidade genômica indicada pelo comprimento telomérico (TL) e presença de células com micronúcleos (MN) em indivíduos expostos ocupacionalmente às lavouras de tabaco e em indivíduos não expostos. Correlacionar esses dados com a suscetibilidade individual quanto aos genes *OGG1*, *XRCC1* e *PON1*.

RESULTADOS:

Observou-se aumento significativo de cotinina (principal metabólito da nicotina) e dos elementos inorgânicos Cl, P, S e Zn no grupo exposto em relação ao não exposto (Tabela 1), que confirmam a exposição e podem levar a danos ao DNA. O grupo exposto apresentou maiores frequências de MN e redução do comprimento telomérico quando comparado ao grupo não exposto (Tabela 2). Dentro do próprio grupo exposto, verificou-se que fumicultores com genótipo *PON1 Gln/Gln* apresentaram maiores índices de MN em relação aos que portavam o alelo Arg. Ainda em relação aos fumicultores, observou-se um efeito protetor nos indivíduos com genótipo *XRCC1 Arg/Arg* tanto para as frequências de MN como para tamanho telomérico, o qual também foi influenciado positivamente pelo alelo *OGG1 -/Cys* (Tabela 3).

METODOLOGIA:

Este estudo envolveu 121 indivíduos de um grupo exposto e 121 indivíduos de um grupo não exposto, os quais foram selecionados na região do Vale do Rio Pardo- RS e pareados por gênero e idade. Amostras de sangue foram coletadas, sendo dosados níveis de cotinina plasmática por HPLC-UV e, em sangue total seco, foram determinados os elementos inorgânicos pelo método de PIXE. Também em sangue total, foi extraído DNA dos indivíduos pelo método *salting-out*, e em seguida foi realizada PCR-RFLP e as amostras aplicadas em gel de poliacrilamida.

O comprimento telomérico foi avaliado através de qPCR. Os MN foram verificados através do Teste de Micronúcleos de Mucosa Oral (BM_{Cyt}), sendo analisadas 2.000 células por indivíduo (Figura 1).

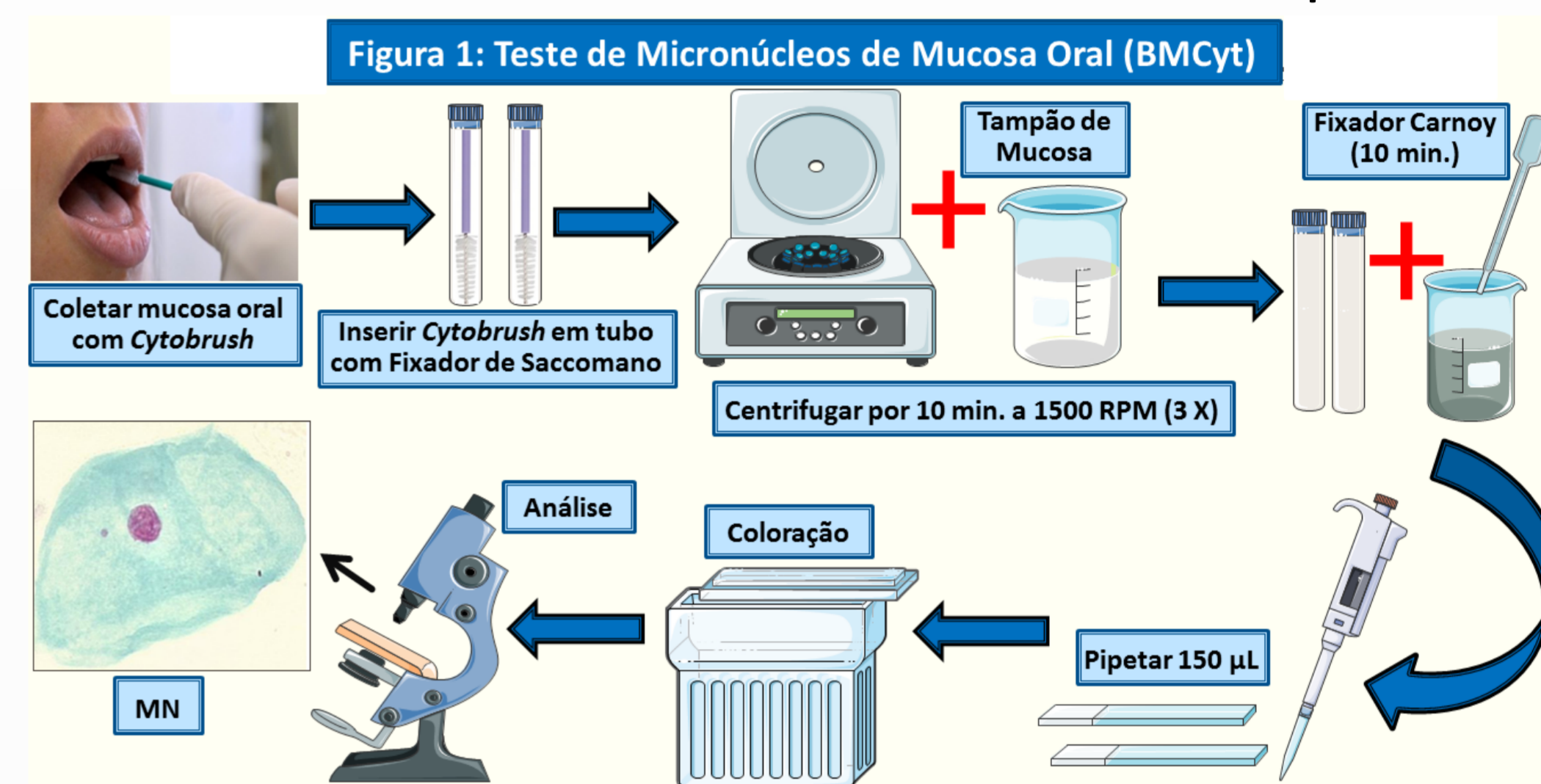


Tabela 1. Níveis plasmáticos de cotinina (ng/mL) e de elementos inorgânicos em sangue total seco (ppm) para grupos não exposto e exposto (média ± desvio padrão).

Parâmetros	Não exposto (n= 121)	Exposto (n= 121)	Valor de p
Cotinina	13,53 ± 1,2	88,82 ± 14,4	<0,001
Elementos Inorgânicos			
Cálcio (Ca)	684,20 ± 105,4	334,20 ± 31,0	<0,001
Cloro (Cl)	6119 ± 489,1	8615 ± 488,3	0,001
Cromo (Cr)	1,54 ± 0,4	3,13 ± 0,7	0,072
Fósforo (P)	1518 ± 68,4	1822 ± 136,3	0,031
Potássio (K)	5648 ± 585,2	5975 ± 206,5	0,558
Sódio (Na)	4888 ± 303,5	4517 ± 456,0	0,965
Enxofre (S)	3655 ± 71,5	4746 ± 132,7	<0,001
Zinco (Zn)	23,09 ± 1,9	35,12 ± 2,0	<0,001

Resultados significativos destacados em negrito. Teste-t não pareado.

Tabela 2. Parâmetros de instabilidade genômica avaliados pelo Teste de Micronúcleo de Mucosa Oral (BM_{Cyt}) e comprimento de telômeros (pb) para grupos não exposto e exposto. Dados apresentados como média ± de desvio padrão.

Parâmetros	Não exposto (n= 121)	Exposto (n= 121)	Valor de p ^a
BM_{Cyt} #			
Micronúcleos			
Masculino	1,2 ± 0,1	4,8 ± 0,5	< 0,001
Feminino	1,3 ± 0,1	5,3 ± 0,7	< 0,001
Valor de p ^b	1,2 ± 0,2	4,1 ± 0,5	< 0,001
Valor de p ^b	0,784	0,215	
Comprimento de Telômeros	6387 ± 284,3	3937 ± 57,7	< 0,001
Masculino	6477 ± 430,1	3853 ± 65,6	< 0,001
Feminino	6434 ± 400,4	3976 ± 85,8	< 0,001
Valor de p ^b	0,941	0,783	

^a Valor de p entre grupos não exposto e exposto; teste-t não pareado; ^b valor de p entre indivíduos do sexo masculino e feminino dentro de cada grupo; teste Mann-Whitney. Resultados significativos destacados em negrito. # avaliado em 2.000 células/ indivíduo.

CONCLUSÕES:

Nosso estudo evidencia danos genotóxicos devido à exposição ocupacional na fumicultura. Ainda, propõe que *PON1* desempenhe um papel no sistema de metabolização xenobiótica em agricultores, enquanto que a via BER pode ser o principal mecanismo de reparo envolvido na instabilidade genômica sofrida pelos produtores de tabaco.

Tabela 3. Efeitos dos genótipos de reparo dos polimorfismos *OGG1 Ser326Cys* e *XRCC1 Arg194Trp* e dos genótipos de metabolização do polimorfismo *PON1 Gln192Arg* no nível de diferentes biomarcadores avaliados em grupos não exposto e exposto (média ± desvio padrão).

Parâmetros	<i>PON1 Gln192Arg</i>			<i>OGG1 Ser326Cys</i>			<i>XRCC1 Arg194Trp</i>		
	<i>PON1 Gln/Gln</i>	<i>PON1 Gln/Arg ou Arg/Arg</i>	Valor de p ^a	<i>OGG1 Ser/Ser</i>	<i>OGG1 Ser/Cys ou Cys/Cys</i>	Valor de p ^a	<i>XRCC1 Arg/Arg</i>	<i>XRCC1 Arg/Trp ou Trp/Trp</i>	Valor de p ^a
BM_{Cyt}									
Micronúcleos									
Não Exposto	1,19 ± 0,2	1,12 ± 0,1	0,818	0,53 ± 0,1	0,95 ± 0,2	0,056	1,22 ± 0,1	0,62 ± 0,2	0,103
Exposto	6,26 ± 0,7	3,80 ± 0,6	0,013	5,71 ± 0,7	5,21 ± 0,8	0,670	4,22 ± 0,5	7,23 ± 1,1	0,044
Comprimento de Telômeros									
Não Exposto	6741 ± 463,1	6454 ± 418,3	0,646	6370 ± 417,1	7153 ± 677,5	0,304	6818 ± 379,0	5143 ± 348,0	0,034
Exposto	3902 ± 82,5	3988 ± 96,9	0,500	3787 ± 58,4	4141 ± 131,6	0,027	3817 ± 57,5	4205 ± 158,2	0,028

^a Valor de p entre os genótipos dentro de cada polimorfismo; Teste-t não pareado. Valores significativos destacados em negrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

DA SILVA, F. R.; DA SILVA, J.; NUNES, E.; BENEDETTI, D.; KAHL, V.; ROHR, P.; ABREU, M. B.; THIESEN, F. V.; KVITKO, 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.

Endereço eletrônico do autor principal: julianapicinini@hotmail.com