

ANÁLISE DA OCORRÊNCIA DE MICRÔNÚCLEOS EM CÉLULAS DO EPITÉLIO JUGAL DE AGRICULTORES EXPOSTOS A AGROTÓXICOS

Mariana Yumi Date (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Renata Sano Lini, Simone Aparecida Galerani Mossini, Tânia Cristina Alexandrino Becker, Priscilla de Laet Santana, Edilson Nobuyoshi Kaneshima (Co-orientador). Alice Maria de Souza Kaneshima (Orientador). E-mail: amskaneshima@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Básicas da Saúde, Maringá, PR.

Área: 4.01.00.00-6 Medicina

Subárea: 4.01.05.00-8 Anatomia Patológica e Patologia Clínica

Palavras-chave: genotoxicidade, micronúcleo, exposição ocupacional.

RESUMO

Na agricultura, a exposição ocupacional aos agrotóxicos pode levar a alterações genotóxicas que predispoem ao câncer. Neste trabalho, 2.000 células do epitélio jugal de 26 agricultores (2 não expostos e 24 com exposição) foram avaliadas por meio do teste de micronúcleo, sendo constatado que 79,17% (n=19) dos agricultores expostos aos agrotóxicos apresentaram micronúcleo, com uma quantidade variando entre 1 a 12, sendo também observadas células binucleadas, trinucleadas, broto nuclear, broken eggs, além de alterações indicativas de morte celular. Alguns agricultores (n=8) são tabagistas e grande parte consome bebida alcoólica de forma moderada (n=15). Dos 17 agricultores que relataram o uso do Equipamento de Proteção Individual (EPI) apenas 2 relataram a utilização correta, demonstrando a necessidade de maior conscientização destes trabalhadores rurais quanto ao uso do EPI, principalmente naqueles em que foram observados micronúcleos, pois apresentam maior risco para o desenvolvimento de câncer.

INTRODUÇÃO

No ambiente agrícola, há uma utilização intensa de agrotóxicos, mas nem sempre com os cuidados necessários, o que contribui para o aumento das intoxicações ocupacionais e da degradação ambiental, acarretando em problemas de saúde na população rural brasileira e também entre os consumidores dos alimentos (TAGHDISI et al., 2019). Pesquisas apontam que a exposição a agrotóxicos aumenta o risco de danos no DNA, dentre elas a presença de micronúcleos, de núcleo picnótico e de cariólise (BENEDETTI et al., 2013). Neste caso, o teste de micronúcleo em células bucais dos trabalhadores rurais pode ser uma boa opção como indicador citogenético que detecta alterações relacionadas à estrutura cromossômica e à estabilidade genômica, servindo de alerta para possíveis riscos de desenvolvimento de algum tipo de câncer, tendo em vista que os eventos

relacionados com a formação do micronúcleo podem acarretar na ativação de proto-oncogenes ou deleção de genes supressores de tumor, sendo portanto eventos antecedentes ao desenvolvimento de neoplasias (BOLOGNESI, HOLLAND, 2016).

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com 26 agricultores, sendo 2 sem exposição e 24 com exposição aos agrotóxicos que após o esclarecimento das dúvidas, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido previamente autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP) parecer de nº 4.254.657 - CAAE:31596620.9.0000.0104. Inicialmente foi aplicado um questionário a fim de identificar hábitos de vida dos agricultores, tipos de agrotóxicos mais utilizados, uso adequado de equipamento de segurança, o tempo e a frequência de exposição. Posteriormente foi realizada a coleta de células epiteliais da mucosa jugal por meio de escova cytobrush e, posteriormente, foi realizado o processamento laboratorial de acordo com Benedetti et al. (2013). As células foram avaliadas utilizando a microscopia óptica de campo claro com uma ampliação de 1000X. A identificação dos micronúcleos foram de acordo com os critérios sugeridos por HOLLAND et al. (2008), e para cada agricultor foram contadas 2000 células epiteliais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de exposição aos agrotóxicos pelos agricultores variou de 0,5 a 58 anos, com média de $25,95 \pm 16,31$ anos. Um total de 17 agricultores forneceram informações relacionadas ao uso de EPI, e apenas 2 agricultores relataram o uso adequado, 9 fazem uso parcial e 6 não utilizam EPI. Em relação aos hábitos de vida, 33,33% (n=8) relataram fumar ou ter fumado durante a vida. Grande parte (n=15) faz consumo moderado de bebida alcoólica. Cerca de 37,5% (n=9) dos agricultores com exposição aos agrotóxicos relataram pelo menos uma vez ter apresentado sintomas relacionados com a intoxicação por agrotóxico, sendo que 4 deles utilizam EPI de modo inadequado e 5 não fazem uso de nenhum tipo de proteção. Na Figura 1, podem ser observadas as alterações citogenéticas encontradas nas amostras de células epiteliais da mucosa jugal dos agricultores analisados.

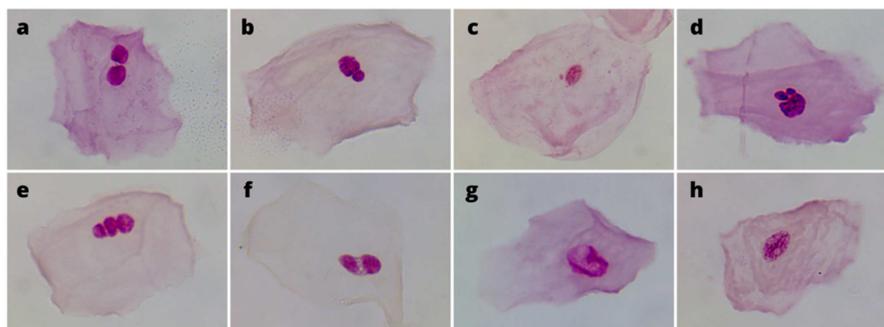


Figura 1 – Alterações citogenéticas. (a) célula binucleada, (b) broto nuclear, (c) micronúcleo, (d) vários micronúcleos, (e) célula trinucleada, (f) brokeneggs, (g) cromatina marginalizada, (h) cromatina

condensada.

Além disso, observou-se também alterações nucleares relacionadas com o processo de morte celular (Figura 2).

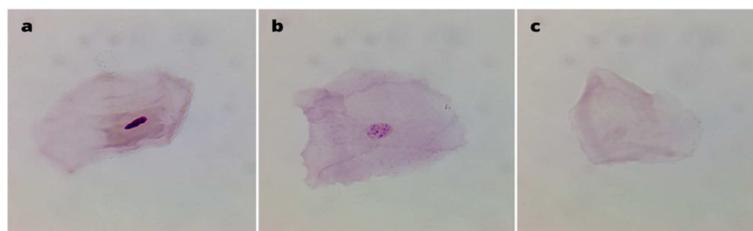


Figura 2 – Células em etapas de morte celular. (a) piconose, (b) cariorrexe, (c) cariólise.

A média do número de micronúcleos entre os agricultores sem exposição direta aos agrotóxicos (n=2) foi de 1,5 (\pm 2,12) e no grupo com exposição (n=24) foi de 3,79 (\pm 3,31) no grupo com exposição, conforme observado na Tabela 1. Apesar do pequeno número de agricultores sem exposição direta aos agrotóxicos, ainda foi possível observar diferença na média do número de micronúcleos quando comparado com os agricultores com exposição. A quantidade de células com micronúcleo e de células binucleadas observadas neste grupo foi semelhante ao descrito por Benedetti et al (2018).

Ainda de acordo com o descrito na Tabela 1, em todas as amostras analisadas foram encontradas células binucleadas, variando entre 3 e 17, com média de 7,96 \pm 4,62, e broto nuclear, variando de 5 a 33, com média de 12,78 \pm 7,60. Observou-se também 1 a 2 células trinucleadas em 25% das amostras (n=6), com média de 0,33 \pm 0,63. Deve ser ressaltado que 3 amostras contendo células trinucleadas eram de agricultores que não utilizam Equipamento de Proteção Individual (EPI) e os demais utilizam de forma incompleta. Alterações nucleares relacionadas com o processo de morte celular (piconose, cariorrexe e cariólise) também foram observadas.

Tabela 1 – Média das anormalidades citogenéticas e das características de morte celular encontradas no epitélio jugal dos agricultores expostos (n=24). Total de células contadas=2000

Alteração celular	Quantidade	Porcentagem
Micronúcleo	3,79 (\pm 3,31)	0,19%
Célula binucleada	7,96 (\pm 4,62)	0,40%
Broto nuclear	12,78 (\pm 7,60)	0,64%
Célula trinucleada	0,33 (\pm 0,63)	0,02%
Broken eggs	2,52 (\pm 3,60)	0,13%
Cromatina marginalizada	0,42 (\pm 0,83)	0,02%
Cromatina condensada	1,04 (\pm 1,67)	0,05%
Piconose	13,92 (\pm 11,89)	0,70%
Cariorrexe	32,12 (\pm 28,10)	1,61%
Cariólise	44,54 (\pm 48,41)	2,23%

Alguns agrotóxicos podem apresentar alterações genotóxicas e efeito clastogênico, podendo ter relação com a formação de micronúcleos que são formados a partir da quebra da estrutura cromossômica dando origem a fragmentos cromossômicos acêntricos. A exposição aos agrotóxicos de forma ocupacional pode ter relação com as alterações citogenéticas observadas nas amostras analisadas, devido à ação genotóxica de alguns agrotóxicos. Como por exemplo na ocorrência de células trinucleadas observadas em agricultores que não utilizam EPI, portanto é possível estabelecer uma relação entre a ocorrência de algumas alterações citogenéticas com a exposição ocupacional sem o uso, ou o uso inadequado de EPI.

CONCLUSÕES

O tempo de exposição aos agrotóxicos e o uso incorreto do EPI pode ter relação com o maior número de células epiteliais da mucosa jugal que apresentaram alterações citogenéticas ou de processos relacionados com a morte celular, sendo necessário estabelecer estratégias para maior conscientização por parte dos agricultores sobre a importância do uso correto dos EPI's e dos cuidados com o manejo dos agrotóxicos, principalmente daqueles em que foi observada a ocorrência de micronúcleos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa e incentivo à pesquisa científica

REFERÊNCIAS

BENEDETTI, D. et al. Genetic damage in soybean worker exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutation Research**, v. 752, p. 28–33, 2013.

BENEDETTI, D. et al. DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmer exposed to complex mixture of pesticides. **Mutagenesis**, v. 33, p. 87–95, 2018.

BOLOGNESI, C., HOLLAND, N. The use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for monitoring pesticide-exposed populations. **Mutation Research**, v. 770, p. 183–203, 2016.

TAGHDISI, M. H. et al. Knowledge and practices of safe use of pesticides among a group of farmers in Northern Iran. **The International Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 10, p. 66–72, 2019.

TOMIAZZI, J. et al. Evaluation of genotoxic effects in Brazilian agricultural worker exposed to pesticides and cigarette smoke using machine-

32º Encontro Anual de Iniciação Científica
12º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



23 e 24 de Novembro de 2023

learningalgorithms.

scienceandpollutionresearchinternational, v.25, p.1259–1269, 2018.

Environmental