# OCORRÊNCIA DE POLIMORFISMO NO GENE DE REPARO *XRCC1* EXON 6 EM TRABALHADORES RURAIS EXPOSTOS LABORALMENTE AOS AGROTÓXICOS

Camilla Yumi Endo (PIBIC/FA), Thalita Fontana Manocchi, Tânia Cristina Alexandrino Becker, Simone Aparecida Galerani Mossini, Alice Maria de Souza Kaneshima (Co-orientadora), Edilson Nobuyoshi Kaneshima (Orientador). E-mail: enkaneshima@uem.br

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

**Área:40600009 - Saúde Coletiva - Subárea:40602001 - Saúde Pública**

**Palavras-chave:** genes de reparo de DNA, agrotóxicos, câncer.

## RESUMO

O Brasil é uma das principais referências em produção e exportação agrícola. No entanto, isso só foi possível a partir de programas governamentais que permitiram o uso de agrotóxicos em larga escala. A população mais exposta à essas substâncias são os agricultores, os quais podem apresentar polimorfismos em seus genes de reparo. Nesse estudo foram analisados 10 trabalhadores expostos diariamente aos agrotóxicos e 4 indivíduos não expostos a fim de avaliar a ocorrência de no gene *XRCC1* exon 6. A metodologia usada foi a técnica da PCR-RFLP, mas foi necessária realizar a otimização das concentrações de reagentes. Os resultados revelaram que 30% do grupo de agricultores avaliados possuem o genótipo Arg-Trp, o qual pode estar relacionado com a predisposição ao desenvolvimento de neoplasias.

## INTRODUÇÃO

Em 1972, o Governo Federal brasileiro criou o Programa Nacional de Desenvolvimento (PND) que tinha com afinidade incentivar o uso de agrotóxicos pelos trabalhadores rurais a partir de compras dessas substâncias por meio dos créditos rurais (Organização Pan-Americana da Saúde, 1996). A partir desse programa o Brasil se tornou uma das maiores referências em exportação de grãos no mundo. Contudo, esse uso indiscriminado de agrotóxicos gerou efeitos adversos para a saúde da população mais exposta, os trabalhadores rurais (Ferreira *et al*, 2006).

Entre as conseqüências para a saúde dos agricultores, pode-se citar o possível desenvolvimento de neoplasias que têm origem multifatorial, ou seja, fatores ambientais interagem com as características genéticas herdadas ou adquiridas ao longo da vida (INCA, 2024).
Muitos agrotóxicos apresentam propriedades genotóxicas, podendo alterar genes de reparo do DNA, e no caso desta alteração ser um processo irreversível resultando na morte celular ou na transformação neoplásica (Ruths *et al*, 2019).
O *XRCC1* é um gene de reparo que pode sofrer mutações devido à ação de fatores ambientais e consequentemente reduzir a capacidade de reparo na molécula de DNA. O polimorfismo genético Arg194Trp pode ser observado em trabalhadores rurais expostos aos agrotóxicos, sendo um potencial fator de risco para o desenvolvimento de neoplasias (Huang *et al*, 2009). Este estudo teve como principal objetivo verificar a ocorrência de polimorfismos no gene de reparo *XRCC1* exon 6 em um grupo de trabalhadores rurais expostos diariamente aos agrotóxicos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O grupo avaliado neste estudo consistiu de 10 agricultores com exposição ocupacional aos agrotóxicos 4 indivíduos não expostos ocupacionalmente aos agrotóxicos, todos moradores da região rural de Marialva-PR. Todos aceitaram participar voluntariamente desse estudo que consistiu de duas etapas: a primeira com aplicação de um questionário para obtenção de informações sócio-demográfico e comportamental, e, a segunda com a coleta de sangue que foi utilizado para a extração do DNA utilizando o BIOPUR Kit Extração Mini Spin Plus (Mobius Life), todos os procedimentos foram realizados de acordo com as instruções do fabricante.
Antes de analisar a ocorrência do polimorfismo genético, realizou-se a padronização da técnica da PCR-RFLP, para a amplificação de um fragmento de DNA do gene de reparo *XRCC1*, utilizou-se tampão de reação de amplificação 1X e concentrações variáveis de DNA genômico (10 a 100 ng); de cada primer (1 a 10 pmoles), de cada dNTP(0,1 a 10 µM) e da enzima Taq DNA Polimerase (0,5 a 2,0 U). As reações de amplificação foram submetidas a 5 min de desnaturação inicial a 95°C, seguidos de 35 ciclos de 30 segundos a 95°C; 35 segundos a 59°C; e 45 segundos a 72 °C; e mais 5 min de extensão final a 72°C.
O fragmento de DNA amplificado foi visualizado por meio de eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo. Este fragmento amplificado foi submetido à clivagem com a enzima de restrição PVUII, incubando em banho maria a 37°C por 2 horas e 30 minutos. E o produto da digestão também foi visualizado por meio de eletroforese em gel de agarose a 2,5% corado com brometo de etídio.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 10 agricultores com exposição ocupacional aos agrotóxicos apresentaram idade média de 45,5 anos ± 12,24, sendo que 70% (n=7) eram do gênero masculino e consomem algum tipo de bebida alcoólica. Os 4 indivíduos não expostos ocupacionalmente aos agrotóxicos apresentaram idade média de 58,25 anos ± 16,06, sendo todas do gênero feminino, ainda neste grupo, verificou-se que 25% (n=1 ) consome bebida alcoólica enquanto que as demais não consomem bebida alcoólica. Nenhum dos participantes utiliza o tabaco. E em relação ao histórico familiar com câncer, 80% (n=8) do grupo com exposição aos agrotóxicos relataram algum familiar com câncer, e 75% (n=3) dos não expostos também relataram algum familiar de primeiro grau com essa patologia. Nenhum agricultor do grupo exposto relatou sintomas de intoxicação por agrotóxicos, mas 25% (n=1) do grupo não exposto já apresentou sintomas de intoxicação.

A não utilização de equipamento de proteção individual (EPI) é realizado somente por 10% (n=1) do grupo exposto ocupacionalmente aos agrotóxicos. No entanto, 90% (n=9) dos agricultores deste grupo utilizam algum tipo de EPI (luvas, botas, macacão, viseira, máscara, chapéu, camisa de manga longa ou óculos). 80% (n=8) participantes usam luvas e botas. E 60% (n=6) usam máscara e 50% (n=5) usam macacão.

Os agrotóxicos mais utilizados pelos trabalhadores rurais foram fungicidas (Orthocide, Dithane, Folin, Cobre, Metiltiofan, Cabrio Top e Cercobin) e inseticidas (Provado, K-Othrine, Matrine, Cartap, Abamectina e Vertimec).

A concentração ótima de reagentes foi de 0,2 µM de cada dNTP, 0,625 UI de Taq polimerase, 5 pmoles de cada primer e 10 ng de DNA. E 80% dos agricultores expostos ocupacionalmente aos agrotóxicos residem na propriedade em que trabalham. Todos os não expostos apresentaram o genótipo do gene XRCC1 exon 6 de Arg-Arg (Arg194Arg) e 70% (n=7) dos agricultores do grupo exposto também apresentaram esse genótipo enquanto que os 30% restantes (n=3) apresentaram heterozigose, sendo heterozigotos Arg-Trp (Arg194Trp), ou seja, de acordo com a literatura científica, há maior risco de desenvolvimento de determinados tipos de cânceres (Dai *et al*, 2009; Huang *et al*, 2011).

## CONCLUSÕES

Entre os 14 participantes, 3 apresentaram o polimorfismo Arg194Trp no gene de reparo XRCC1 exon 6, o qual está relacionado, de acordo com a literatura científica, com um maior risco de desenvolvimento de determinados tipos de cânceres.

**AGRADECIMENTOS**

À Fundação Araucária pela oportunidade da bolsa e pelo incentivo à pesquisa científica.

**REFERÊNCIAS**

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos.** Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 1996. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro2.pdf>. Acesso em: 09 jun. 2024.

FERREIRA, AP, *et al*. Pesticideimpacts in the microbial soilactivityandonfarmershealth. **Rev Baiana Saúde Pública.** 2006;30(2):309-21.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **O que é câncer?** Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer>. Acesso em: 4 jul. 2024.

RUTHS, J. C.; RIZZOTO, M. L. F.; MACHINESKI, G. G. Exposição a agrotóxicos e ocorrência de câncer em trabalhadores de dois municípios do Oeste do Paraná. **CiencCuid Saúde**, 2019, 18.

HUANG, Yongsheng.; LI, Linguo.; YU, Long. XRCC1 Arg399Gln, Arg194Trp and Arg280His polymorphisms in breastcancerrisk: a meta-analysis. **Mutagenesis**, v. 24, n. 4, p. 331–339, 22 maio 2009.