ISSN 2317-5079



PESQUISA

Apoptose em Trabalhadores Expostos ao Agrotóxico Organofosforado

Apoptosis in Workers Exposed to Pesticides organophosphate

La apoptosis en los trabajadores expuestos a plaguicidas organofosforados

Jessica Oyie Sousa Onyeisi[1], Tacyana Pires de Carvalho Costa[2], Lady Fernanda de Souza Santos[3], Ronaldo Costa[4], Fabricio Pires de Moura Do Amaral[5], Tatiana Vieira Souza Chaves[6]

RESUMO

Os agrotóxicos organofosforados são absorvidos por vias dérmicas, respiratória, e digestiva, causando alterações no processo de apoptose em indivíduos expostos a eles. O presente estudo observou os estágios apoptóticos em células esfoliadas da mucosa bucal de trabalhadores expostos e não expostos ao organofosforados, com o uso do teste de micronúcleo. Foram monitorados 23 trabalhadores exposto, e 23 Trabalhadores não expostos. Os dados foram submetidos ao programa Prisma. Foram verificadas anormalidades nucleares indicativas de apoptose como frequência de Cariorrexe e frequência de Cariólise. A exposição a estes pesticidas ocasionam alterações no processo de apoptose observado de forma significativa no aumento de alterações relacionadas à Cariólise; estagio final desse processo. O aumento na frequência dessas alterações é um indicativo de genotoxicidade e demonstra a necessidade de monitoramento citogenético dos trabalhadores expostos, visto que a apoptose também ocorre em condições patológicas e que falha neste processo pode levar ao surgimento de câncer. **Descritores:** Agrotóxico, Organofosforados, Exposição ocupacional, Apoptose.

ABSTRACT

Organophosphate pesticides are absorbed by dermal routes, respiratory, and digestive, causing changes in apoptosis in individuals exposed to them. This study observed the apoptotic stages in exfoliated buccal mucosa cells of workers exposed and not exposed to organophosphates, using the micronucleus test. They were monitored 23 workers exposed and 23 unexposed workers. Data were subjected to the Prism program. nuclear abnormalities indicative of apoptosis were observed as frequency and frequency karyolysis karyorrhexis. Exposure to these pesticides cause changes in the observed process of apoptosis significantly in increasing changes related to karyolysis; final stage of this process. The increase in the frequency of these changes is indicative of genotoxicity and demonstrates the need for cytogenetic monitoring of exposed workers, whereas apoptosis also occurs in pathological conditions and failure in this process can lead to the emergence of cancer. **Descriptors:** Pesticides, Organophosphorus, Occupational exposure, Apoptosis.

RESUMEN

Los plaguicidas organofosforados se absorben por vía cutánea, respiratorio y digestivo, provocando cambios en la apoptosis en los individuos expuestos a ellos. Este estudio observó las fases de apoptosis en células exfoliadas de la mucosa bucal de los trabajadores expuestos y no expuestos a organofosfatos, usando el ensayo de micronúcleos. Ellos fueron monitoreados 23 trabajadores expuestos y 23 trabajadores no expuestos. Los datos se sometieron al programa Prism. No se observaron anormalidades nucleares indicativos de la apoptosis como la frecuencia y la frecuencia cariolisis cariorrexis. La exposición a estos pesticidas causan cambios en el proceso de apoptosis observada de forma significativa en el aumento de los cambios relacionados con cariolisis; etapa final de este proceso. El aumento en la frecuencia de estos cambios es indicativo de genotoxicidad y demuestra la necesidad de un control citogenético de los trabajadores expuestos, mientras que la apoptosis también se produce en condiciones patológicas y el fracaso en este proceso puede conducir a la aparición de cáncer. **Descriptores:** Los pesticidas, organofosforados, exposición laboral, la apoptosis.

[1] Graduada em Biomedicina, Faculdade Mauricio de Nassau- Teresina, PI. [2]Docente Faculdade Mauricio de Nassau-Teresina, PI. [3] Graduada em Biomedicina, Faculdade Mauricio de Nassau- Teresina, PI. [4]Docente Faculdade Mauricio de Nassau-Teresina, PI. [5] Docente da Universidade Estadual do Piauí – UESPI – Teresina, PI. [6] Docente do Centro Universitário UNINOVAFAPI – Teresina, PI.

ISSN 2317-5079

INTRODUÇÃO

Os compostos organofosforados podem ser obtidos por diversos métodos de preparação simples e diferentes e possuem um largo campo de aplicações (SANTOS et al., 2007). Estes compostos são amplamente utilizados em agropecuárias como inseticidas podendo serem também utilizados na medicina oncológica como agentes antineoplásicos e, são, de um modo geral, aspergido como aerossóis ou na forma de pó sendo rapidamente absorvidos por via dérmica, respiratória e digestiva (CAVALIERE et al., 1996).

A principal função destes compostos é a inibição da acetilcolinesterase, uma proteína molecular presente nas sinapses colinérgicas. Como consequência dessa inibição ocorre à acumulação de acetilcolina nas sinapses Muscarinica e nicotínicas[1] Segundo Grecco et al., (2009), o acúmulo de acetilcolina nas sinapses pode induzir dois principais tipos de sinais clínicos: (1) Muscarinico: caraterizados por sudorese, Sialorréia, hipermotilidade gastrointestinal, diarreia e bradicardia; (2) Nicotínicos, resultante da ação da acetilcolina sobre as placas motoras e caracterizados por rigidez muscular, tremores e paralisia

Apoptose é um termo utilizado para a morte programada de uma célula, causando uma série de alterações morfológicas no citoplasma e no núcleo, não desencadeando autólise; a célula é fragmentada e seus fragmentos são fagocitados pelo macrófago sem desencadear uma resposta inflamatória (GONÇALVES et al., 2013). A apoptose ocorre para eliminar células que não são mais necessárias ao organismo ou a resposta á injúria genotóxica. Esse processo tem um papel fundamental no mecanismo de proteção contra a carcinogênese por eliminar células geneticamente danificadas (MEIRELES et al., 2006).

As principais características para identificar uma célula apoptótica vão ser as alterações nucleares, conhecidas como picnose, aonde o núcleo da célula vai se encontrar bem condensado; cariorrexe, onde vai haver uma distribuição irregular da cromatina e a cariólise que é o processo final desaparecendo o núcleo e a cromatina, acarretando por fim na morte celular por completo (SILVA et al., 2005).

A apoptose é um fenômeno muito importante na prevenção contra a carcinogênese (BRASILEIRO-FILHO, 2008). De acordo com Meireles et al. (2006), o aumento na frequência dessas alterações relacionados com a apoptose é um indicativo de genotoxicidade, o que aponta para a necessidade de biomonitoramento de populações que estão expostos a mutágenos e carcinógenos. O objetivo desse trabalho foi observar os estágios apoptóticos em células esfoliadas da mucosa bucal de trabalhadores expostos e não expostos a organofosforados.

METODOLOGIA

Esta pesquisa baseou-se em um modelo transversal de investigação tratando-se de uma pesquisa de caráter experimental e quantitativa, realizada no município de Valença do Piauí que está localizado à 224 km da capital piauiense. Para esta pesquisa foram coletadas amostras de células do epitélio bucal dos doadores voluntários selecionados, tendo como critérios de inclusão: Ter entre 18 e 50 anos e Fazer parte do quadro de agentes de saúde da Secretaria de Saúde do Estado do Piauí / SESAPI, trabalhando com aplicação de organofosforados e como critérios de exclusão: Estar fazendo uso de algum medicamento; Agentes do sexo feminino; Está com alguma infecção (virótica ou bacteriana); Ter sido submetido a raios-X, tomografia ou qualquer outro

ISSN 2317-5079

procedimento radiológico a menos de 3 meses; Ter feito tratamento quimioterápico ou radioterápico em algum momento da vida e Trabalhadores que não são capazes de entender o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

O estudo constou de dois grupos (1) Grupo controle, com 23 trabalhadores não expostos a organofosforados e (2) Grupo teste, com 23 trabalhadores expostos ocupacionalmente a organofosforados, totalizando 46 sujeitos.

Os dados obtidos neste trabalho foram submetidos ao teste One-way ANOVA (e não paramétrico), teste de comparação múltipla Bonferronis, através do programa Prizma, e do Teste t-Student. Em todas as analise o nível de significância utilizado foi de 5%.

As amostras da mucosa bucal dos trabalhadores selecionados foram submetidas à análise do teste de micronúcleos. O material foi obtido mediante raspagem da mucosa bucal, utilizando para tal, a escova cytobrush® (utilizada pela ginecologia para células cervicais). Com esse raspado foi confeccionado um esfregaço com a auxílio de duas gotas de solução de soro fisiológico (NaCl a 0,9%), que foi fixado em metanol/ácido acético 3:1 e após 24 horas as preparações, assim obtidas, foram coradas com Giemsa. Toda a análise foi realizada em teste cego. A partir desta técnica foram observadas as células apoptóticas. Todos os indivíduos incluídos neste estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), antes da coleta do material humano. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética da UFC (Universidade Federal do Ceará), através do número de protocolo COMEPE n°: 117/12.

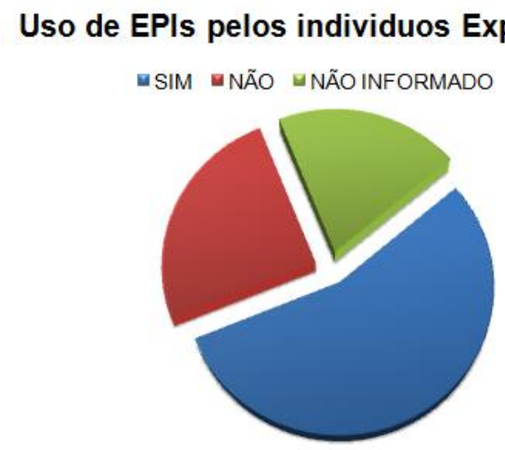
RESULTADOS

Tabela 01: Caracterização sócio – demográfica e estilo de vida dos indivíduos expostos a organofosforados no município de Valença – Piauí.

IDADE: (anos)	< 30	4	(17,3%)
	30-39	2	(8,6 %)
	40-49	5	(21,7%)
	50-59	5	(21,7%)
	>60	5	(21,7%)
	Não Informaram (NI)	2	(8,6 %)
ESTADO CIVIL	Solteiro	4	(17,3%)
	Casado	17	(73.9
	Divorciado	0	%)
	Viúvo	1	(0,0%)
	NI	1	(4.4 %)
			(4.4%)
TABAGISMO	Fumam	7	(30,4%)
	Fumavam	3	(13%)
	Não	12	(52,1)
	NI	1	(4,3%)
ETILISMO	Bebem	19	(82,6%)
	Bebiam	0	(0,0%)
	Não	3	(13,0)
	NI	1	(4,3%)
HISTORICO ATUAL DE DOENÇA	NI	1	(4,3 %)
	Não	15	(65,2%)
	Sim	8	(34,7%)

Fonte: pesquisa direta, 2012.

Gráfico 01: Frequência de utilização de equipamento de proteção individual (EPIs) pela População exposta a organofosforados no município de Valença do Piauí do ano de 2012.



Fonte: pesquisa direta, 2012.

ISSN 2317-5079

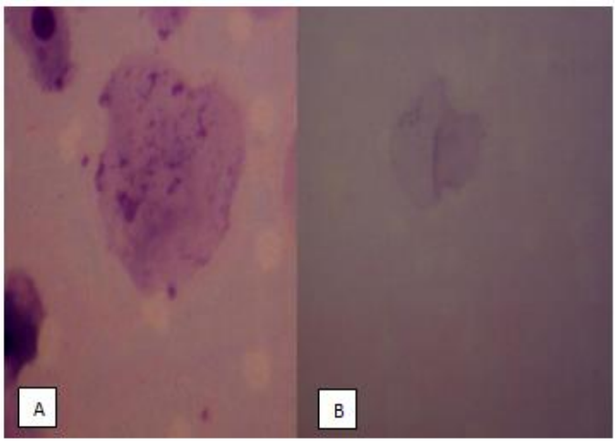


Figura 01: Células apresentando Cariorrexe (A) e Cariólise (B).

Cariorrexe, Cariólise e Picnose são alterações nucleares indicativas de apoptose, nesse estudo as características morfológicas referentes à picnose não obtiveram um nível de significância, entretanto a Apoptose pode ser reconhecida por duas características morfológicas distintas e bem marcantes: Cariorrexe quando ocorre a fragmentação do núcleo e cariólise quando ocorre a total dissolução do núcleo (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007) (Figura 01).

Tabela 02: Anormalidades nucleares indicativas de apoptose identificadas em mucosa bucal de indivíduos expostos e não expostos a organofosforados no município de Valença do Piauí no ano de 2012.

Anormalidades nucleares	CX[a]	(%) CX[a]	CL[a]	(%) CL[a]
Expostos = 23	184,1 ± 79,43	68,00 ± 313,00	138,5[b]±71,35***	55,00 ± 312,00
Não expostos = 23	717,0 ± 212,2	120,9 ± 346,00	47,48 ± 48,98	140,00 ± 2,000

CX: Cariorrexe; CL: Cariólise; Frequência. [a]2000 células por indivíduo. [b] Média ± Desvio padrão. Resultados expressos em Média ± desvio padrão. Significância em ***P<0,0001, **P<0,001 e *P<0,05 em relação aos trabalhadores não exposto

Fonte: pesquisa direta, 2012.

DISCUSSÃO DOS DADOS

Características sócias – demográficas

A partir dos dados obtidos pelo questionário de saúde pessoal (recomendado pela ICPMC) foi possível identificar as características sócio – demográficas e de estilo de vida da população de estudo (tabela 01) e utilizá-las como parâmetros na correlação com a exposição ocupacional ao grupo de pesticida organofosforados.

O estudo contou com a participação de 23 indivíduos expostos ao inseticida organofosforados e 23 indivíduos não expostos, todos do sexo masculino, atuantes na secretaria de saúde de Valença, localizada no município de Valença – Piauí, onde a maioria encontra-se casado (73,9%), e com idade de 40 a 59 anos (adultos).

Esse estudo mostrou ainda que, quanto à saúde pessoal, (30,4 %) dos trabalhadores expostos possuem o habito de fumar, e que (82,6 %) consumem bebidas alcoólicas (TABELA 01). O habito de fumar e consumo de bebidas alcoólicas podem ser influenciadores no resultado dessas pesquisas, pois em muitos casos levam a efeito aditivos e sinergísticos (OLIVEIRA; FERREIRA, 2014). É importante considerar que há uma associação significante entre anormalidades nucleares, hábito de fumar e ingestão de bebida alcoólica, em indivíduos expostos (PACHECO; HACKEL, 2002).

Utilização de EPI

A utilização do Equipamento de Proteção Individual é de suma importância para a saúde de trabalhadores que o utilizam principalmente para trabalhadores, onde o seu próprio trabalho é um risco a sua própria saúde (PELLOSO; ZANDANONI, 2014). Dentro dos nossos entrevistados vimos que,

a maioria dos trabalhadores faz a utilização dos equipamentos de proteção individual, mais nota-se que também existe uma grande parte que não utiliza ou que nem ao menos recebeu algum tipo de informação sobre a grande importância da utilização de EPI's (gráfico 01).

A não utilização de Equipamentos de Proteção Individual é um fator de risco, pois os inseticidas são lipossolúveis atravessando a barreira da pele facilmente, além disso, são voláteis o que permite a sua inalação (PELLOSO; ZANDANONI, 2014).

Alterações Nucleares indicativas de apoptose

As alterações indicativas de apoptose são classificadas como ótimos marcadores genéticos na prevenção do câncer (MEIRELES et al., 2006), pois apontam efeitos genotóxicos induzidos por agrotóxicos e demais agentes químicos, físicos e biológicos.

A frequência de Cariólise apresentou significativamente maior nos indivíduos expostos ao Organofosforado; a Cariólise é considerada a fase final da apoptose, é quando ocorre a fragmentação final do material genético no interior de corpos apoptóticos libertos no meio extracelular (HAJNÓCZKY et al., 2005).

CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que, na exposição aos pesticidas ocorrem alterações no processo de apoptose, pois o aumento da frequência dessas alterações é indicativo de genotoxicidade. Demonstra ainda que existe a necessidade de incluir o biomonitoramento citogenético nos exames dos indivíduos expostos, visto que a apoptose também ocorre em condições patológicas e que a falha nesse processo pode levar ao surgimento de cânceres.

REFERÊNCIA

ALVES, M.E.; JUNIOR, J.F.; GUERREIRO, A.S. Intoxicação por organofosforados. **Medicina Interna**, v.6, n. 2, p. 88-91, 1999.

BRASILEIRO-FILHO, G. **Bogliolo**: patologia geral. 3. ed. Rio de janeiro: ed. Guanabara koogans. 2008.

CAVALIERE, M.J. et al. Miotoxicidade por organofosforados. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 267-72, 1996. DOI: 10.1590/S0034-89101996000300010.

GONÇALVES, C.A.P. et al. Efeito de anti-inflamatórios não esteroidais na apoptose de células epidermais lamelares de equinos com laminite. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 65, n.5, p.1409-1418, 2013. DOI: 10.1590/S0102-09352013000500020

GRECCO, F.B. et al. Intoxicação por organofosforados em búfalos (Bubalus bubalis) no Rio grande do sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 29, n. 3, p. 211-214, mar., 2009. DOI: 10.1590/S0100-736X2009000300004

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A.B. Morte celular por apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia.**, v. 53, n. 3, p. 335-343, 2007.

HAJNÓCZKY, G. et al. Alcohol and Mitochondria in Cardiac apoptosis mechanisms and visualization. **Alcoholism Clinical and Experimental Research.**, v. 29, n. 5, 2005. DOI: 10.1097/01. ALC. 0000163493.45344.

MEIRELES, J.R.C. et al. Apoptose em células esfoliadas da mucosa bucal de indivíduos ocupacionalmente expostos a agentes mutagênicos e carcinogênicos. **Revista Brasileira de Cancerologia,** v. 52, n. 4, p. 337-343, 2006.

OLIVEIRA, S.N.K.; FERREIRA, L.G. Analise citogenética em indivíduos ocupacionalmente expostos a defensivos agrícolas. In: **Anais do VI Seminário de Iniciação cientifica**, Universidade estadual de Goiás, Goiás, 2014. Disponível em < www.prp.ueg.br> Acesso em 14 de agosto de 2014.

PACHECO, A.O.; HACKEL, C. Instabilidade cromossômica induzida por agroquímicos em trabalhadores rurais na região de passo fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cad. Saúde Pública.** Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, p. 1675-1683, nov./dez, 2002. DOI: 10.1590/S0102-311X2002000600022

PELLOSO, E.F.; ZANDANONI, F.B. **Resistance Causes to the Use of Personal Protective Equipment (PPE).** 2014. Disponível em:

Onyeisi, J. O. S. et al. <www.segurancanotrabalho.eng.br>Acesso em: 13 de setembro de 2014.

SANTOS, V.M.R. et al. Compostos organofosforados pentavalentes: Histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova.,** v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007.

SILVA, J.M. et al. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciênc. saúde coletiva.,** Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 891-903, 2005. DOI: 10.1590/S1413-81232005000400013

Submissão: 09/05/2016

Aprovação: 12/01/2017