



Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO); Instituto Biomédico (IB)
Laboratório de Toxicologia Ocupacional, Ambiental e Vigilância do Câncer (LABTOX)
Laboratório de Investigação e Mecanismos de Imunoregulação (LIMIR)



AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO DAS CÉLULAS DE TRABALHADORES, AGENTES DE COMBATE ÀS ENDEMIAS, EXPOSTOS A PESTICIDAS NO RIO DE JANEIRO

Victória da Rocha Lyra

Yngrid dos Santos Cabral; Carolina Dias ; Kátia Poça ; Leandro Vargas Barreto de Carvalho ; Eline Simões Gonçalves; Isabele Campos Costa-Amaral; Ana Paula das Neves Silva; Marcus Vinicius Corrêa dos Santos ; Priscila Jeronimo da Silva Rodrigues; Marcos Rogério da Silva; Marcia Sarpa; Ariane Leites Larentis; Landi Veivi Guillermo Costilla



LABTOX

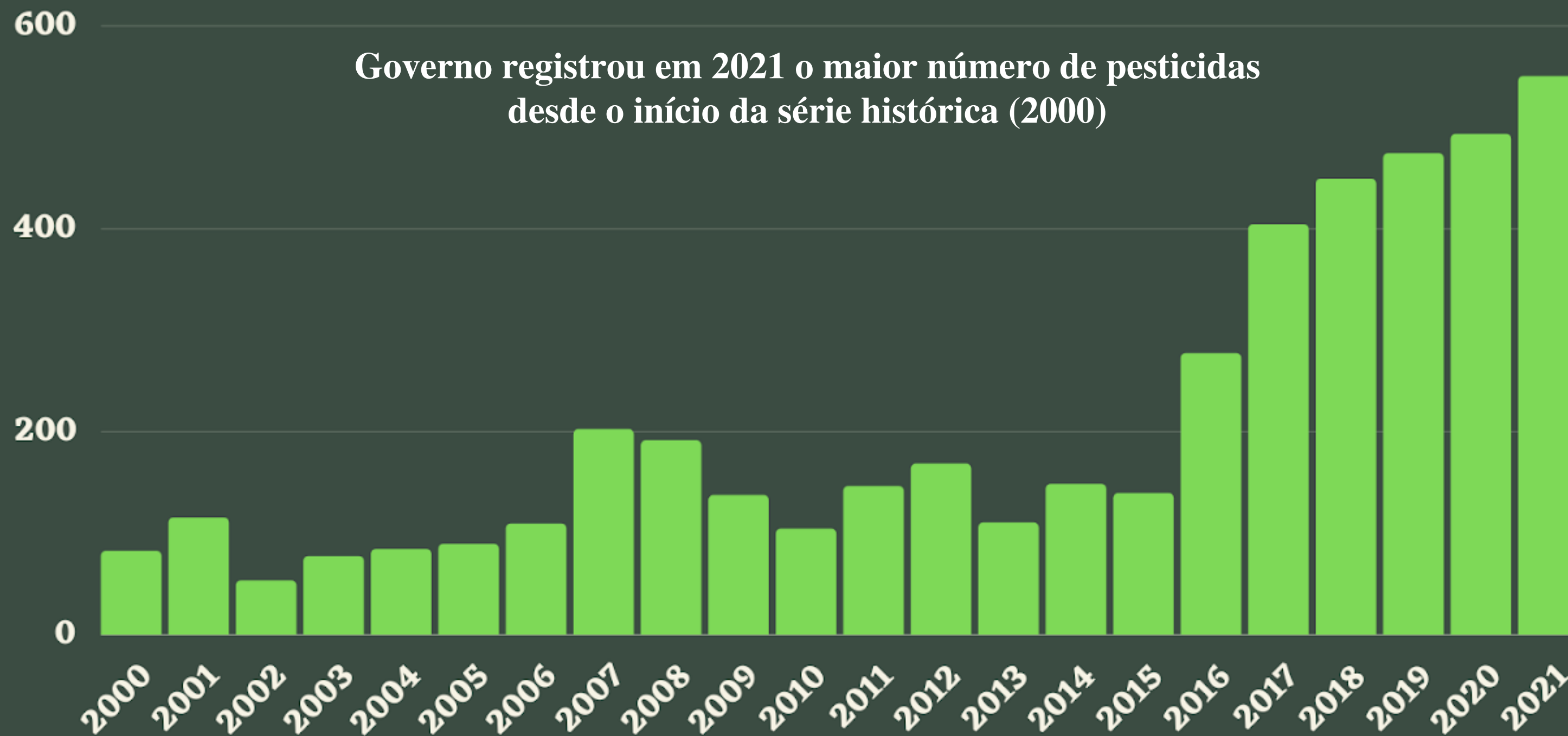
LABORATÓRIO DE TOXICOLOGIA OCUPACIONAL,
AMBIENTAL E VIGILÂNCIA DO CÂNCER



LIMIR

Laboratório de Investigação de
Mecanismos de Imunoregulação

Registro de Agrotóxicos no Brasil

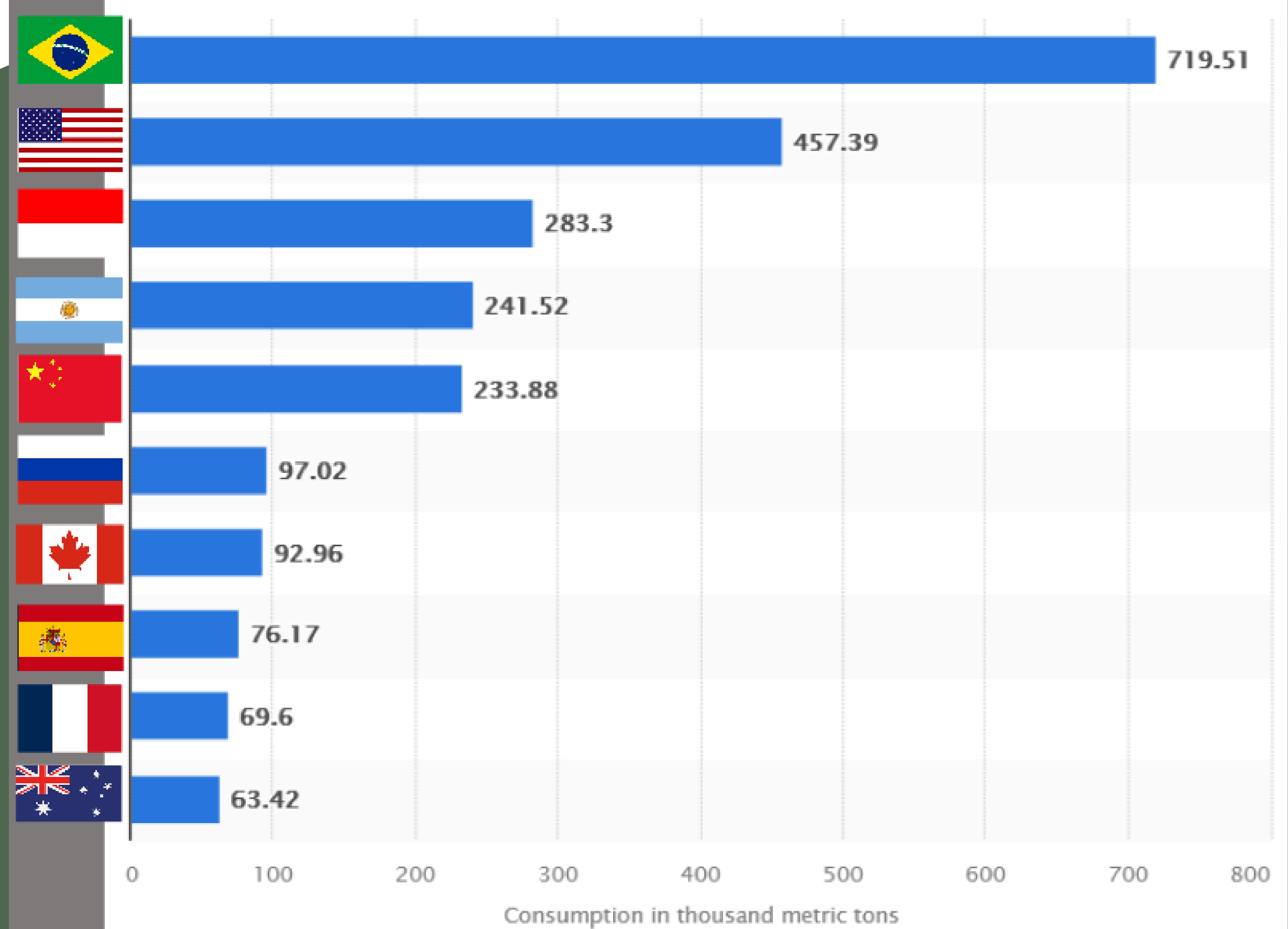


Brasil encerra 2021 com 562 agrotóxicos liberados, sendo 33 inéditos

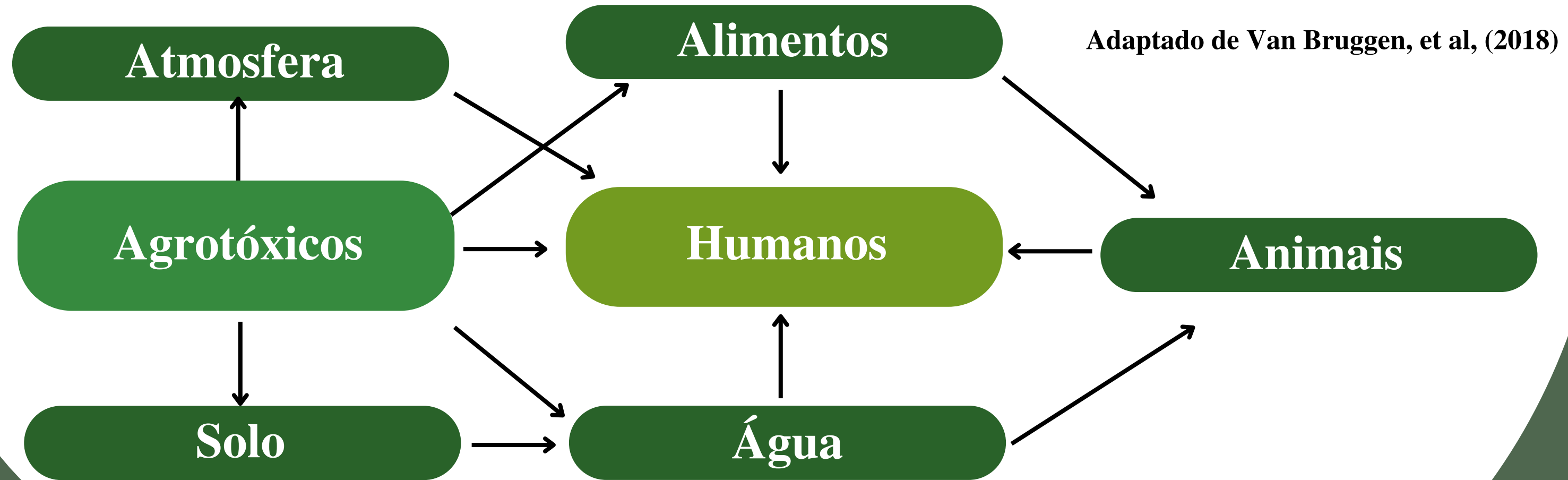
Fonte: Ministério da Agricultura

Países líderes no consumo de pesticidas agrícolas a nível mundial em 2021 (em 1,000 toneladas métricas)

Adaptado de Statista (2023)



Fontes de exposição ambiental dos seres humanos aos agrotóxicos



Agentes de Combate às Endemias

Atuam na prevenção e controle de doenças endêmicas, identificando os focos de vetores e, posteriormente, erradicando-os

Malaria



Dengue



LARENTIS, et al. (2021)

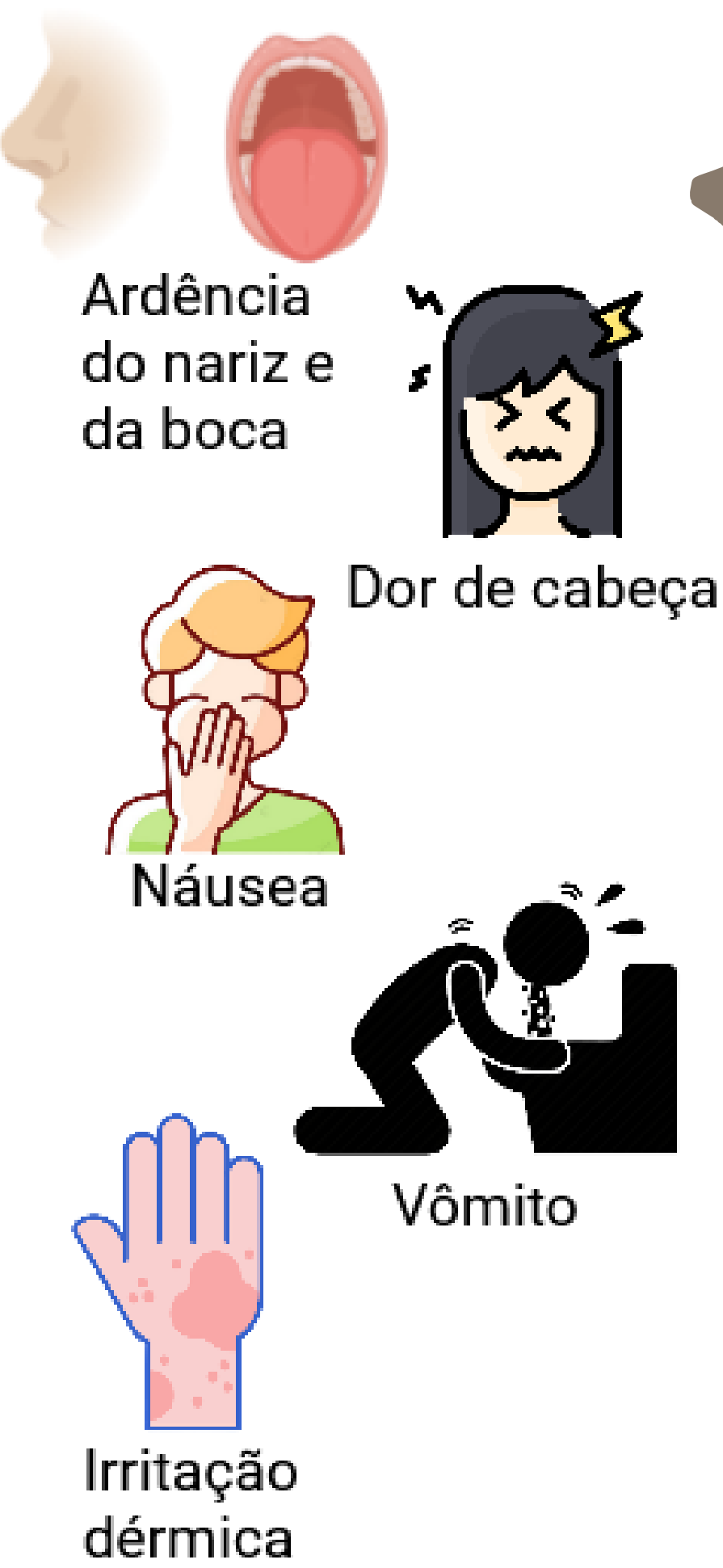


Prefeitura de Sorocaba (2016)

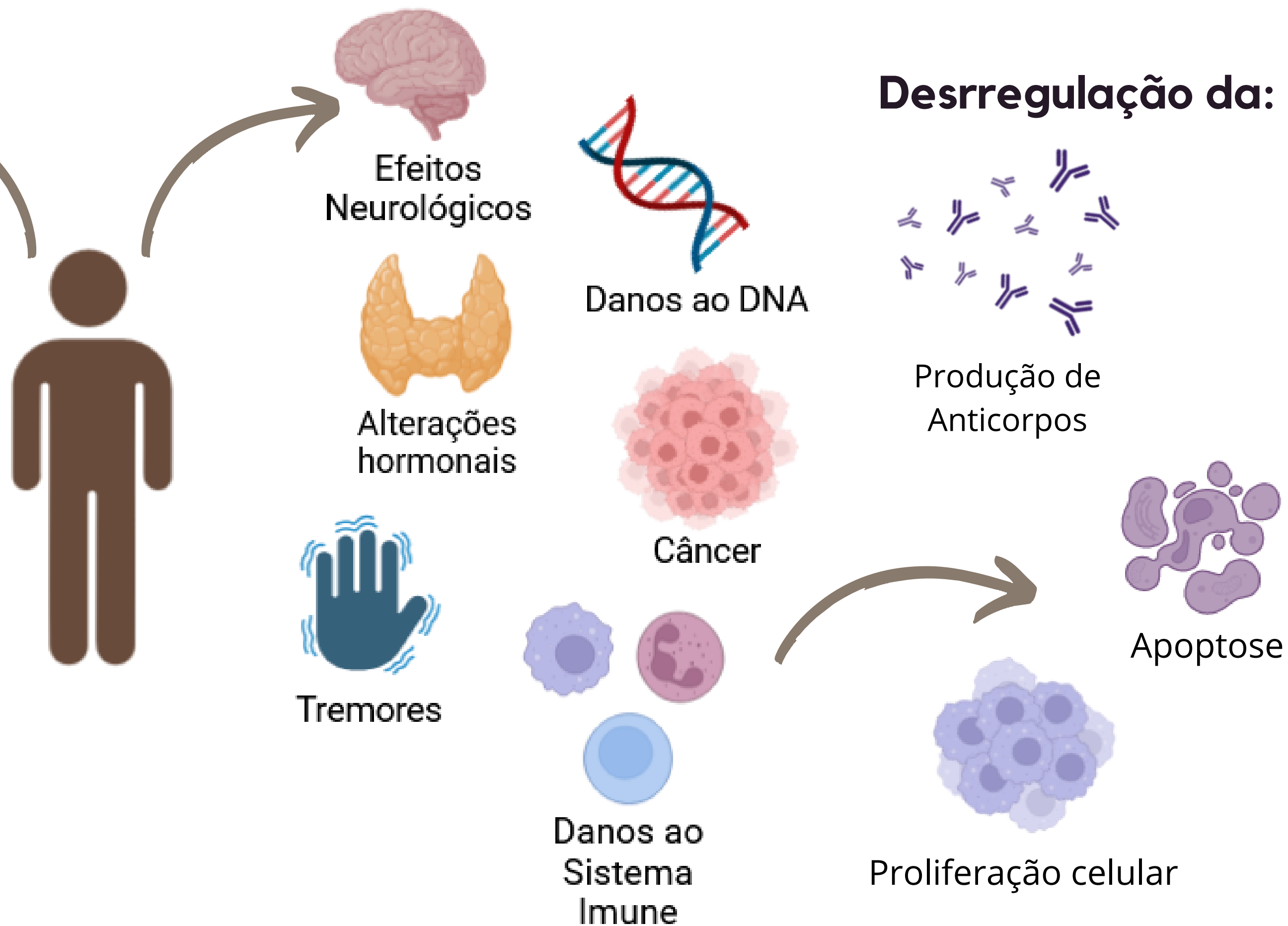


Prefeitura de Marabá (2020)

Efeitos Agudos



Efeitos Crônicos



Células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)

Capacidade de coordenar a resposta imune, desempenhando papéis específicos como a produção de anticorpos, a fagocitose de agentes patogênicos e a ativação de outras células imunes



Detecção, destruição e construção da memória imunológica contra agentes patogênicos e estímulos externos



Linfócitos



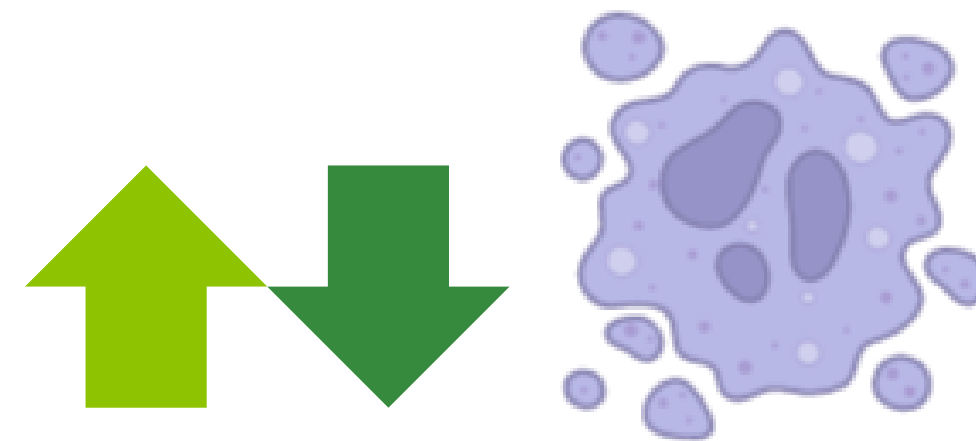
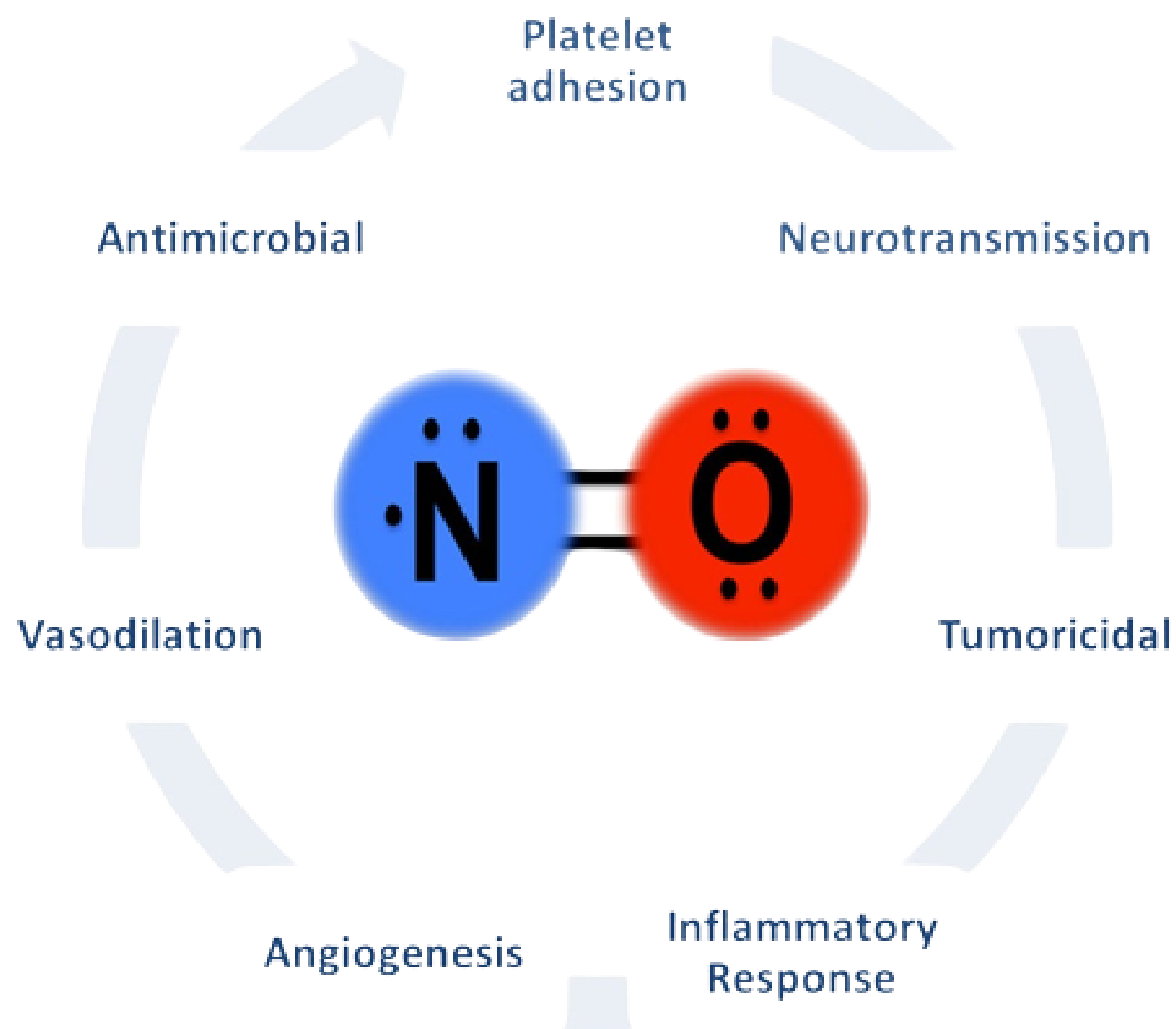
Monócitos



Células Dendríticas

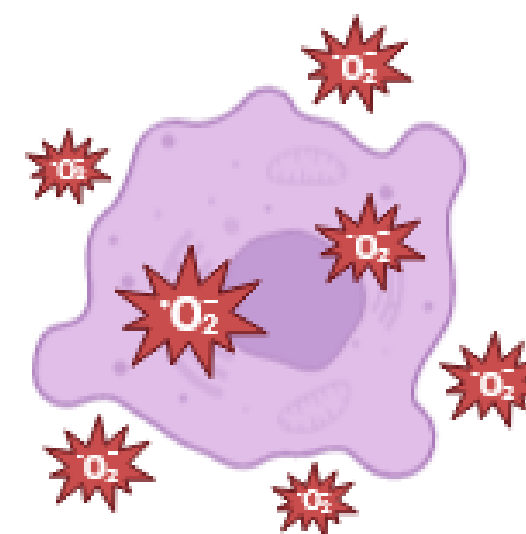
Óxido Nítrico (NO)

Molécula capaz de atuar na modulação de diversos mecanismos imunológicos por possuir propriedades antivirais e antimicrobianas, auxiliando na defesa do organismo contra patógenos e a regulação da inflamação



O NO pode regular o ciclo celular exercendo atividade anti- e pró-apoptótica a baixas e altas concentrações, respectivamente.

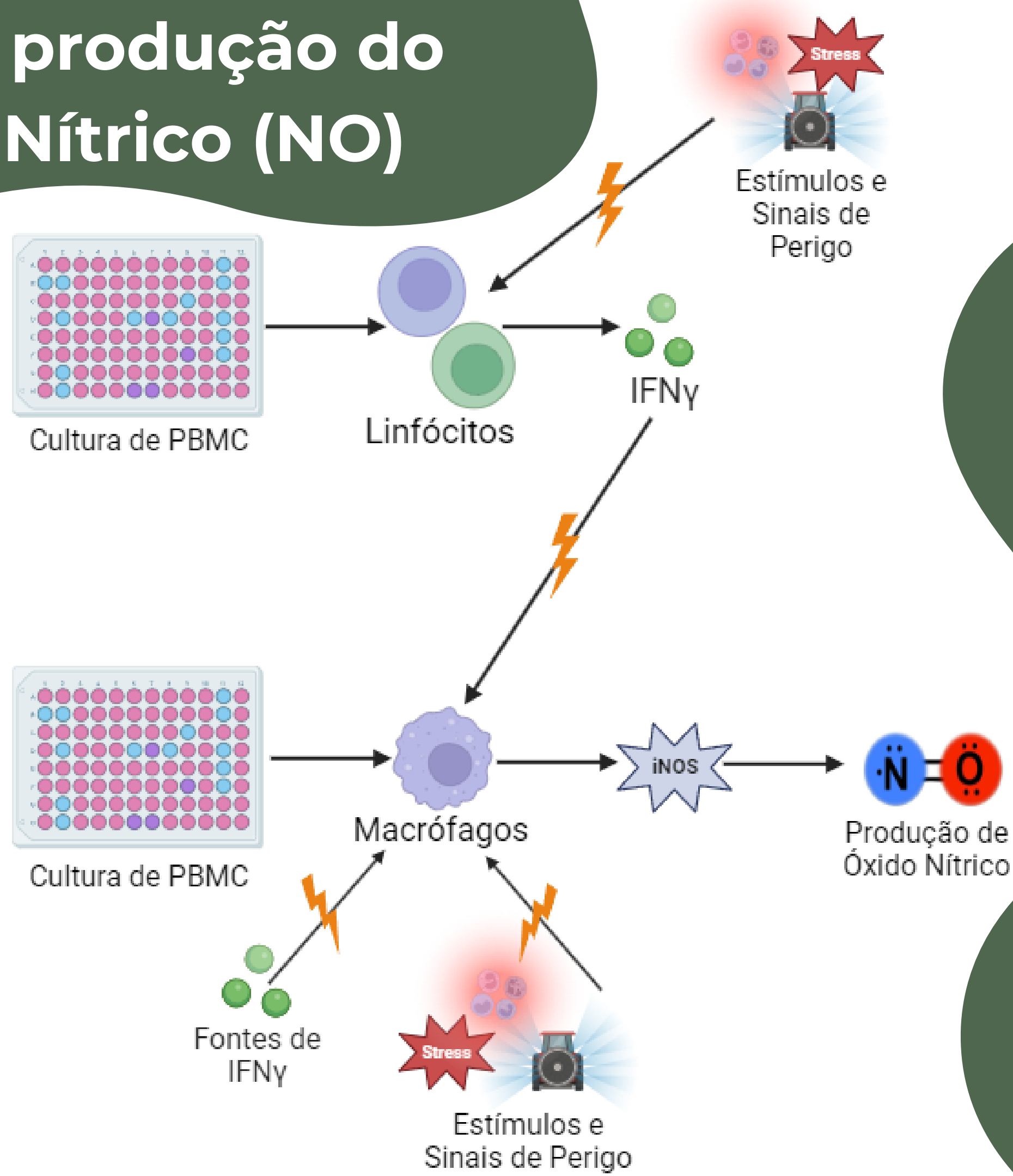
Sahebnasagh, et. al (2022)



Distúrbios da produção de NO podem contribuir para o estresse oxidativo, o que pode afetar a função celular

Weis, et.al (2019)

Vias de produção do Óxido Nítrico (NO)



- Linfócitos podem ser ativados por estímulos ou sinais de perigo produzindo citocinas como o interferon-gama (IFN- γ), que podem estimular os macrófagos a produzir óxido nítrico.

- Macrófagos quando ativados sob a influência de citocinas, como o interferon-gama (IFN- γ), induzem a expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), enzima chave na síntese de óxido nítrico



Objetivo

Quantificação do número de células mononucleares e a produção de óxido nítrico de trabalhadores Agentes de Combate às Endemias expostos ocupacionalmente a agrotóxicos no estado do Rio de Janeiro

Metodologia

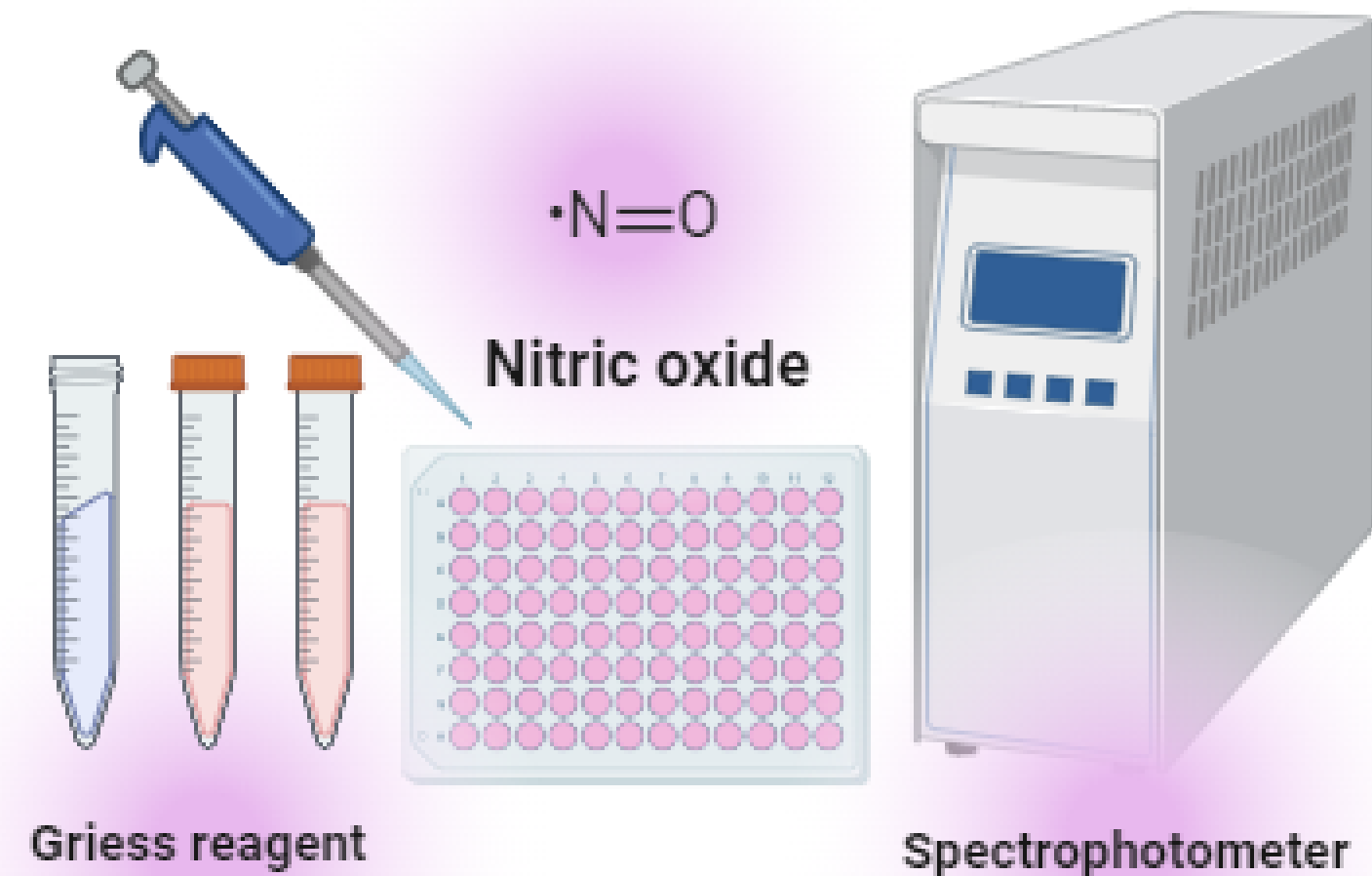
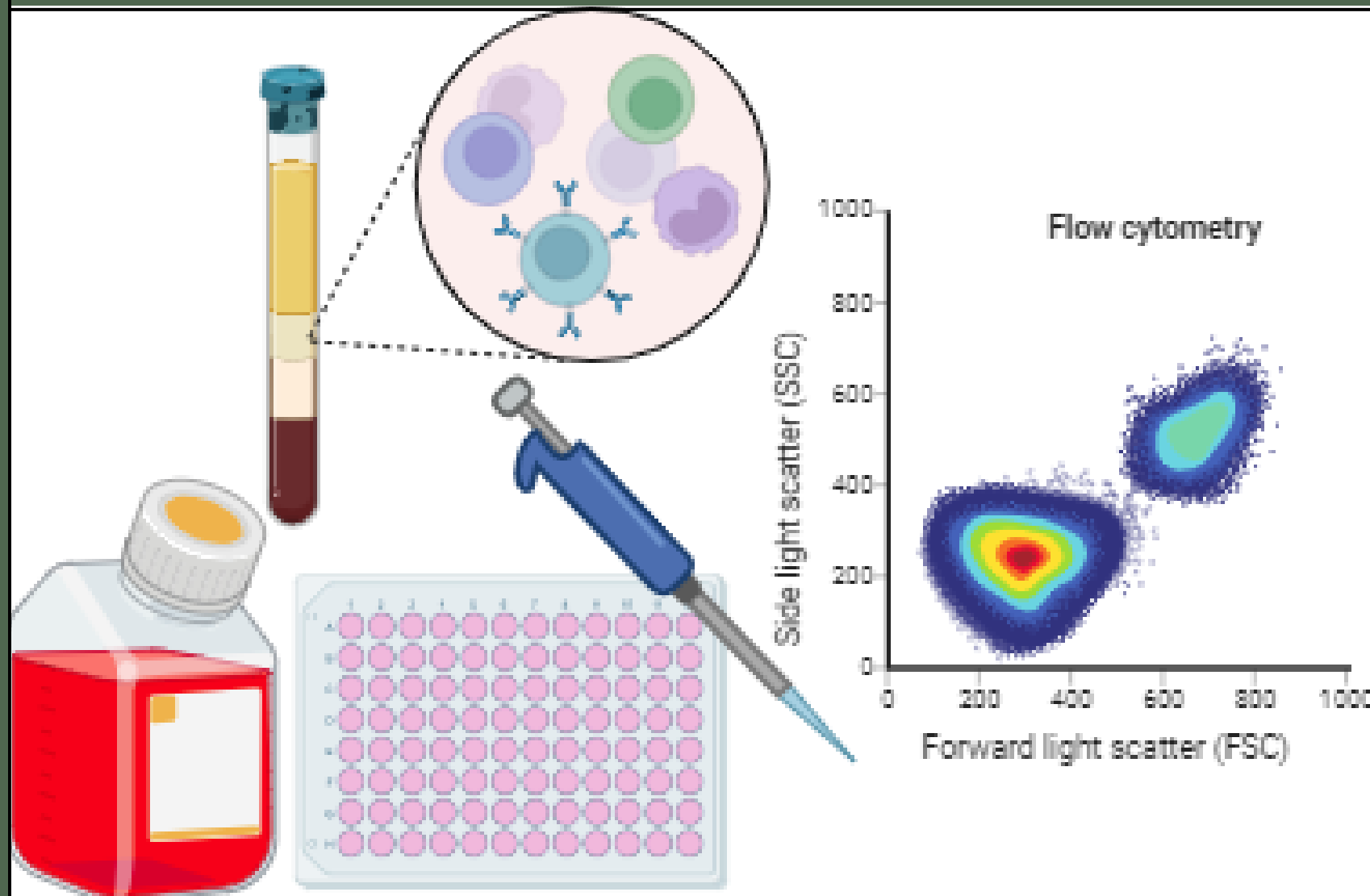
Separação de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) por gradiente de densidade e quantificação de células

Quantificação de óxido nítrico (NO)

- Isolamento e cultura de PBMCs
- Coleta de amostras
- Análise

Realizada utilizando a técnica do reagente de Griess para medir os níveis de nitrito nos sobrenadantes das culturas de PBMC

- frequentemente metabolizado em nitrito e nitrato quando produzido



Resultados

Tabela 1 - Delineamento da população de estudo

	EXPOSTO = 74	AFASTADO = 25
	n (%)	n (%)
Uso de EPI (Equipamento de Proteção Individual)		
Sim	45 (62,50)	15 (62,50)
Não	27 (37,50)	9 (37,50)
Anos de serviço		
1 - 9	12 (16,66)	7 (29,16)
10 - 19	20 (27,77)	5 (20,83)
20 - 29	18 (25,00)	3 (12,50)
30 - 34	18 (25,00)	8 (33,33)
35 +	4 (5,55)	1 (4,16)



Delineamento da população do estudo em relação à utilização de equipamento de proteção individual (EPI) e tempo de exposição dos grupos: ACE expostos (n) = 74, ACE afastados (n) = 25.

Resultados

Tabela 2 - Delineamento da população de estudo

	EXPOSTO = 74	AFASTADO = 25
	n (%)	n (%)
Pele em contato com o Agrotóxico		
Sim	65 (87,84)	16 (64,00)
Não	9 (12,16)	9 (36)
Recebeu treinamento		
Sim	48 (66,66)	13 (54,16)
Não	24 (33,33)	11 (45,83)

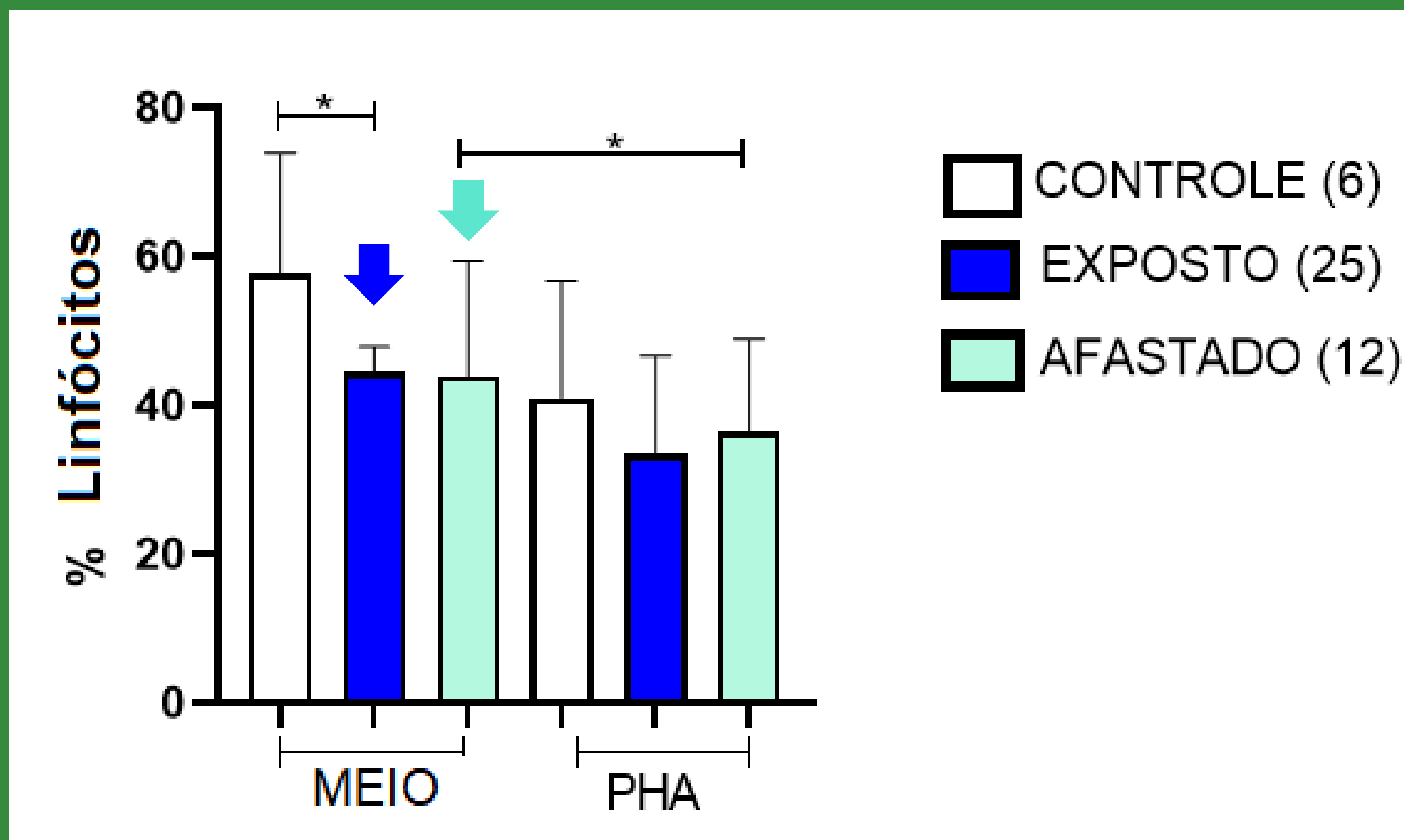
→ Delineamento da população de estudo em relação ao contato da pele com pesticidas e formação para a manipulação de pesticidas dos grupos: ACE expostos (n) = 74, ACE afastados (n) = 25

OS TRABALHADORES ESTÃO SAUDÁVEIS?

COMO SE ENCONTRA O
SISTEMA IMUNE DESTES
TRABALHADORES?

Resultados

Figura 1 - Quantificação de linfócitos em trabalhadores ACE expostos (E) e afastados (A) e grupo de comparação (C) durante 72 horas

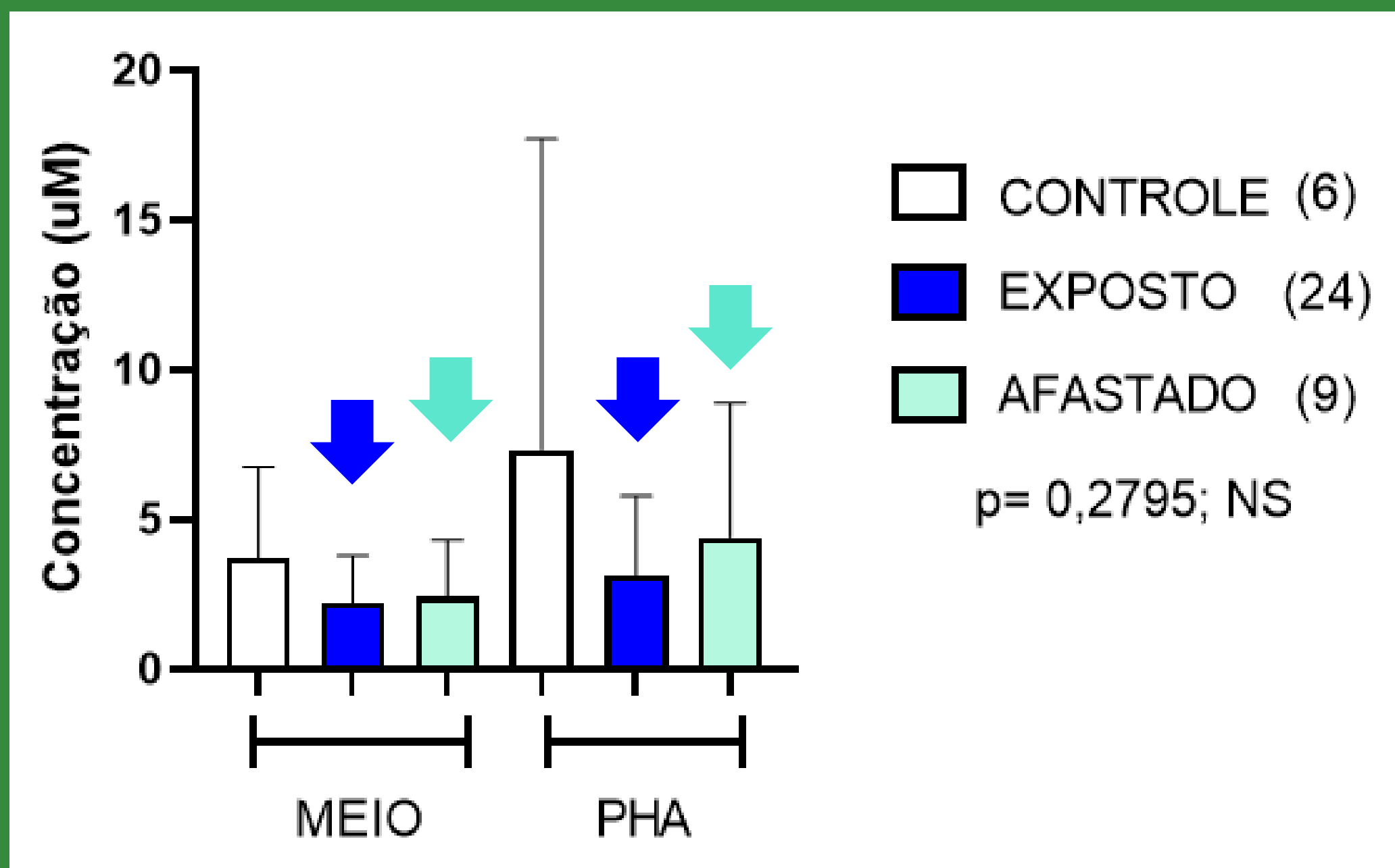


As células dos ACE's Expostos (E) e Afastados (A) apresentaram uma redução estatisticamente significativa no número de células em culturas com MEIO em relação ao grupo de Comparação (C)

Quantificação e análise do percentual de linfócitos em células cultivadas apenas com meio e com um estímulo de ativação (PHA). Foram cultivadas 1×10^6 células/ml na presença de MEIO ou de PHA a uma concentração de $5 \mu\text{g}/\text{mL}$. Análise pareada do percentual (%) de linfócitos totais: Agentes de Segurança Urbana ($n=6$), ACE's Expostos ($n=25$), e ACE's Afastados ($n=12$). * $p < 0.05$.

Resultados

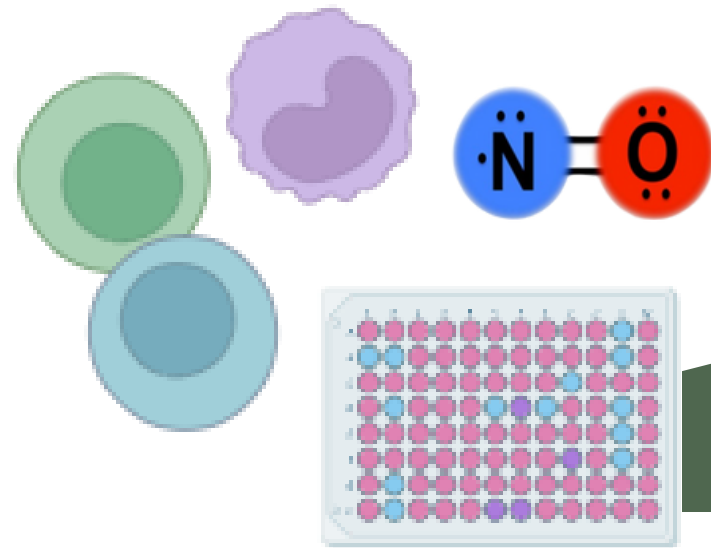
Figura 2 - Produção de óxido nítrico dos ACE's expostos (E), afastados (A) e do grupo de comparação (C)



As células dos ACE's Expostos (E) e Afastados (A) mostraram uma diminuição na produção de Óxido Nítrico em culturas com ambas as situações (MEIO E PHA) em relação ao grupo de Comparação (C)

Análise não pareada da concentração (μM) de Óxido Nítrico produzido por PBMCs em células cultivadas apenas com MEIO e com um estímulo de ativação (PHA). Foram cultivadas 1×10^6 células/ml a uma concentração de PHA de $5 \mu\text{g/mL}$. As células foram expostas a MEIO ou PHA para todos os grupos. Agentes de segurança urbana (comparação) (n) = 6; ACE's Expostos (n) = 24; ACE's Afastados (n) = 9;

Conclusões



A análise da cultura de PBMCs mostrou :

Redução significativa do número de células nos grupos expostos e afastados quando não houve estímulo de ativação e uma diminuição da produção de óxido nítrico, embora não tenha atingido significância estatística



Há urgência em :

Melhorar a supervisão no que diz respeito ao fornecimento e à utilização adequada de equipamento de proteção individual (EPI) e capacitar as pessoas envolvidas no manuseio de pesticidas durante as suas atividades de trabalho



O uso de agrotóxicos prejudica a função imune, com consequências adversas para a saúde.

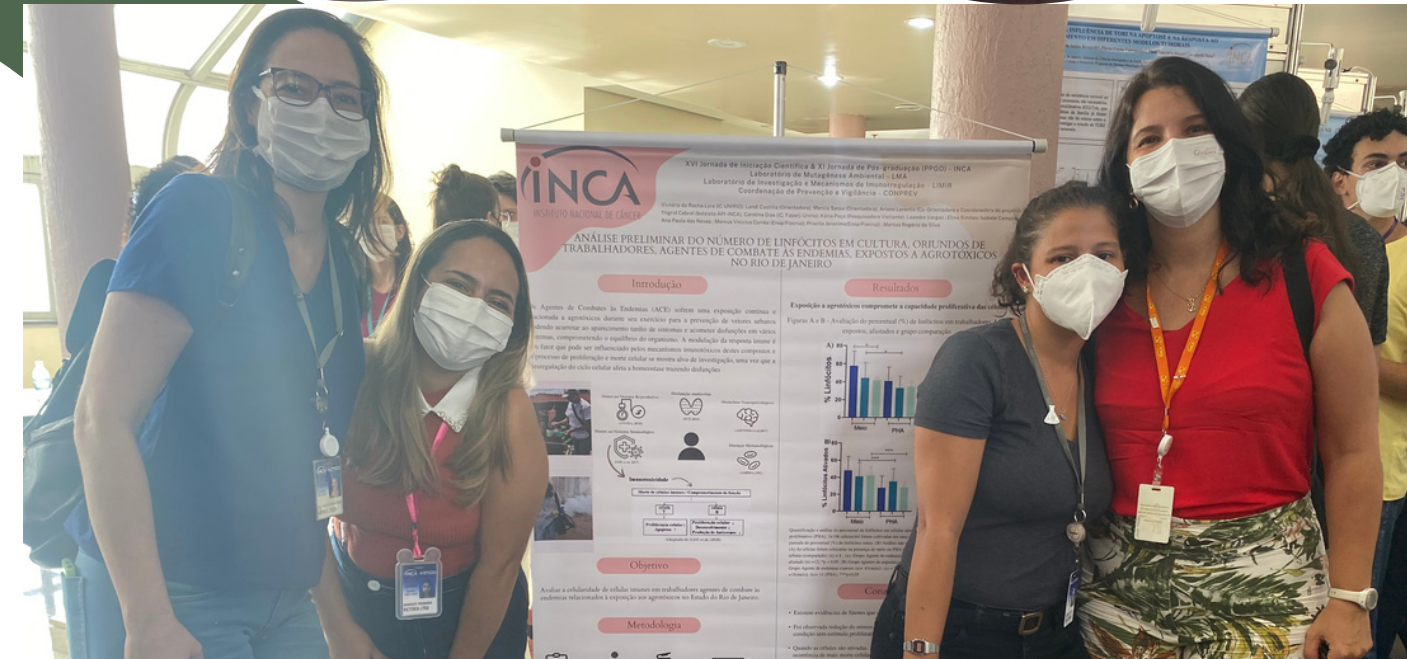
NÃO EXISTEM LIMITES SEGUROS DE EXPOSIÇÃO A ESSAS SUBSTÂNCIAS

Agradecimentos

Prof. Landi Guillermo (Orientadora)
Prof. Marcia Sarpa (Co-Orientadora)
Ariane Larentis (Co-Orientadora)



- Equipe do Laboratório de Toxicologia Ambiental, Ocupacional e de Vigilância do Câncer (LABTOX)
- Equipe do Laboratório de Investigação e Mecanismos de Imunoregulação (LIMIR)
 - Equipe do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH) e da Escola Nacional de Saúde Sérgio Arouca - FIOCRUZ (ENSP)
 - Agentes de Combate às Endemias e Guardas da zona de segurança urbana



Referências

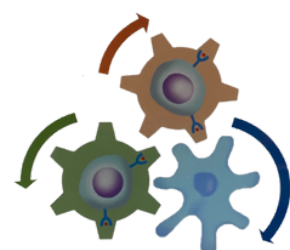
Obrigada!



victoriarlyra@gmail.com



UNIRIO



LIMIR



LABTOX



- LARENTIS AL, et al. Adoecimento e mortes de agentes de combate às endemias no estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos: crítica ao processo de trabalho e construção coletiva de estratégias de enfrentamento. In: Pina JA, Jackson Filho JM, Souza KR, Takahashi MABC, Silveira LB, orgs. Saber operário, construção de conhecimento e a luta dos trabalhadores pela saúde. 1 ed. São Paulo: Hucitec; 2021. p. 164-201
- RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S. Saúde e ambiente no Brasil: desenvolvimento, território e iniquidade social. Cadernos de Saúde Pública, v. 23, sup. 4, p. S475-S501, 200.
- CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. Acta Cirurgica Brasileira, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002. DOI: 10.1590/s0102-865020020006000.
- WEIS, G. C. C.; ASSMANN, C. E.; CADONÁ, F. C.; BONADIMAN, B. S. R.; ALVES, A. O.; MACHADO, A. K.; DUARTE, M. M. M. F.; da CRUZ, I. B. M.; COSTABEBER, I. H. Immunomodulatory effect of mancozeb, chlorothalonil, and thiophanate-methyl pesticides on macrophage cells. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 182, p. 109420. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.1094.
- SAHEBNASAGH, A. et al. Nitric Oxide and Immune Responses in Cancer: Searching for New Therapeutic Strategies. Current Medicinal Chemistry, v. 29, n. 9, p. 1561-1595, 2022. DOI: 10.2174/0929867328666210707194543. PMID: 34238142.
- LEE, G.-H., Choi, K.-C., 2020. Adverse effects of pesticides on the functions of immune system. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 235, 108789. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108789>
- SOARES, Wagner Lopes; PORTO, Marcelo Firpo. Atividade agrícola e externalidade ambiental: uma análise a partir do uso de agrotóxicos no cerrado brasileiro. Ciência & Saúde Coletiva, v. 12, n. 1, p. 131-143, 2007.