

DANOS AO DNA OCACIONADO POR FOLHAS SECAS DE *NICOTIANA TABACUM*: AVALIAÇÃO *IN VITRO* EM CÉLULAS V79

Semana
ACADÊMICA
Integrada
COVID
Cooperar. Viver. Inovar. e Disputar.
Tecnologias para
Superar a Pandemia

09 a 12
de novembro

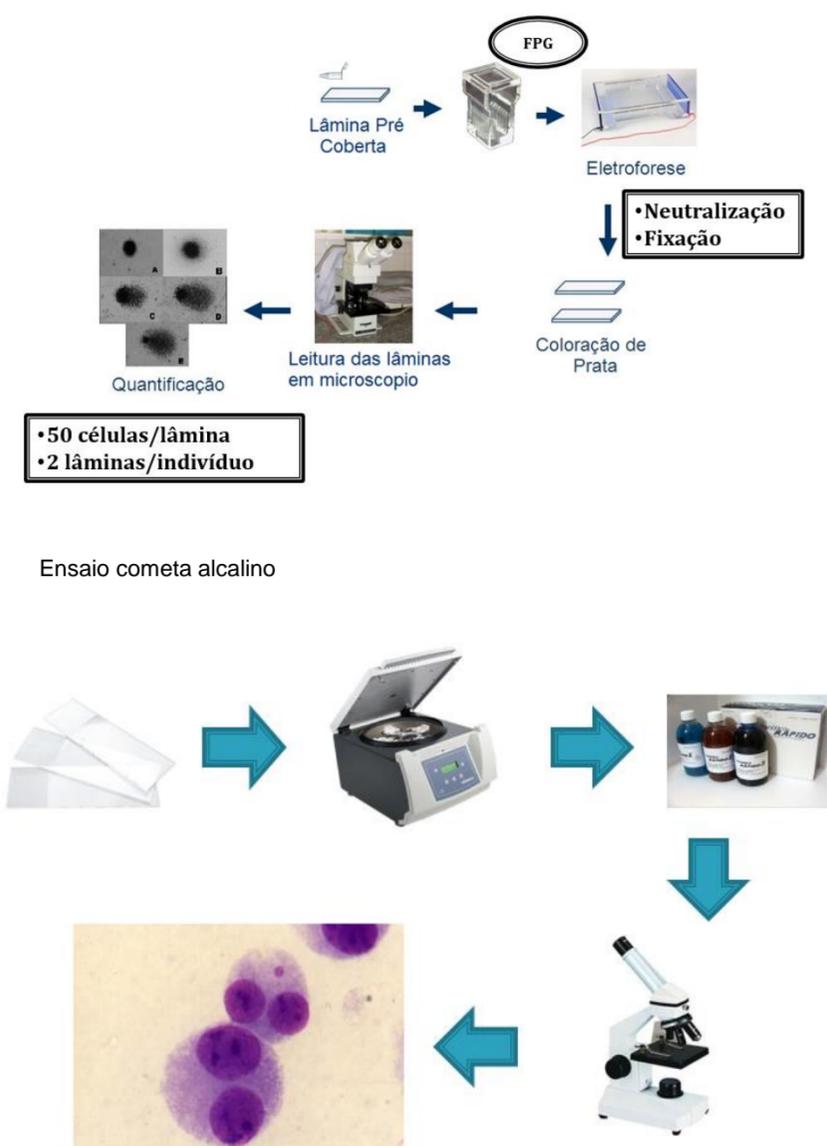
Solange Soares, Daiana Dalberto, Caroline Cardoso Nicolau, Juliana da Silva
Universidade Luterana do Brasil
solangerusse@gmail.com

INTRODUÇÃO

Nicotiana tabacum é a espécie de tabaco mais cultivada no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. É rica em alcalóides como a nicotina, e após o processo de secagem outros componentes podem ser encontrados como nitrosaminas específicas do tabaco, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, além de resíduos de pesticidas. Trabalhadores que manuseiam a planta ficam expostos aos componentes durante a aplicação de agroquímicos, durante a colheita e na separação e classificação das folhas já secas. Esses compostos são classificados como mutagênicos e podem contribuir significativamente para o câncer humano. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos genotóxicos do extrato aquoso das folhas do tabaco seco em células V79 (ensaio cometa e teste de micronúcleo).

METODOLOGIA

As folhas secas foram coletadas em 18 propriedades no estado do RS. Foi realizado um pool com as amostras e então as folhas foram trituradas para serem usadas na forma de pó para quantificar os elementos inorgânicos e para os demais testes foi preparado um extrato aquoso. As células V79 foram mantidas em meio específico e em condições padrão em estufa a 37° C e CO₂ 5%. A determinação da genotoxicidade ocorreu por meio do ensaio cometa alcalino, o potencial mutagênico foi avaliado através do teste de micronúcleos com bloqueio da citocinese (CBMN). A identificação e a quantificação dos elementos inorgânicos foram determinadas através da técnica de PIXE.



Teste de micronúcleos com citocinese bloqueada (CBMN) em linfócitos humanos

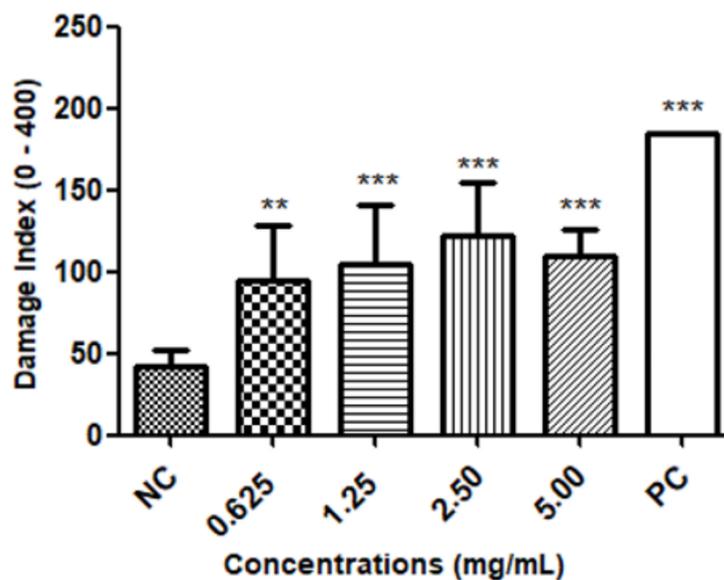
RESULTADOS

Os resultados demonstraram um aumento significativo no índice de danos em todas as concentrações testadas, sugerindo que o extrato aquoso das folhas do tabaco seco podem causar genotoxicidade *in vitro*, como observado através do ensaio cometa. O teste de micronúcleo demonstrou aumento significativo de MN e NBUD na concentração 5 mg/mL e em relação as demais concentrações (0,625-2,5 mg/mL). Foram detectados 13 elementos inorgânicos na amostra (cálcio, potássio, silício, magnésio, enxofre, alumínio, fósforo, cloro, ferro, manganês, titânio, estrôncio e zinco).

Tabela 1. Frequência de micronúcleos (MN), pontes nucleoplasmáticas (NPB), botões nucleares (NBUD), índice de divisão nuclear (NDI), células binucleadas (BN) e células apoptóticas e necróticas de ensaio CBMN-cyt em células V79 por extrato aquoso de seco tabaco (média ± desvio padrão).

Parâmetros	Controle Negativo	concentrações				Controle Positivo
		0.625 mg/mL	1.25 mg/mL	2.5 mg/mL	5.0 mg/mL	
Proliferação celular (1000 células)						
NDI	1.36 ± 0.05	1.39 ± 0.05	1.38 ± 0.08	1.34 ± 0.03	1.32 ± 0.02	1.35 ± 0.03
BN	175.0 ± 25.47	182.0 ± 32.63	173.5 ± 44.78	155.0 ± 21.77	144.8 ± 9.67	162.8 ± 17.17
DNA danificado (1000 BN)						
MN	2.75 ± 1.83	2.95 ± 1.69	3.44 ± 1.71	2.25 ± 1.50	7.47 ± 1.25***a	33.50 ± 2.65***
NPB	2.50 ± 5.00	1.00 ± 2.00	2.19 ± 1.99	0.68 ± 0.48	2.28 ± 1.87	39.25 ± 2.36***
NBUD	2.25 ± 3.20	7.94 ± 2.05	6.24 ± 0.96	3.26 ± 0.99	12.92 ± 2.79***b	16.50 ± 3.00***
Morte Celular (1000 células)						
Apoptose	1.00 ± 1.55	0.50 ± 0.57	0.75 ± 0.96	1.75 ± 1.07	2.75 ± 2.06	3.75 ± 1.71*
Necrose	0.37 ± 0.48	0.25 ± 0.50	0.0 ± 0.0	0.50 ± 0.57	0.0 ± 0.0	3.75 ± 1.26***

* Significativo em comparação ao controle negativo em P < 0,05; ** Significativo em comparação ao controle negativo em P < 0,01; *** Significativo em comparação ao controle negativo em P < 0,001; a Diferença significativa em comparação às demais concentrações com P < 0,05; b Diferença significativa em relação às concentrações 1,25 e 2,5 mg / mL para P < 0,05. ANOVA (teste de Tukey). Controle negativo: meio de cultura; controle positivo: H2O2 1,4 mM.



Análise de danos ao DNA em células V79 expostas ao extrato aquoso de tabaco seco. ** P < 0,01; *** P < 0,001, significativo em relação ao controle negativo - NC. Controle positivo - PC (H2O2 - 1,4 mM). Teste ANOVA / Tukey. Experimentos realizados em duplicata.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que a folha do tabaco seco foi capaz de induzir danos ao DNA, indicando a necessidade de mais investigações que considerem a saúde dos trabalhadores expostos a esse tipo de mistura complexa que podem estar presentes nas folhas do tabaco seco

REFERÊNCIAS

- Fenech M, Kirsch V, Natarajan AT, Surrallés J, Crott JW, Parry J. 2011. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridges and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 26: 125 - 132.
- Fenech, M. 2007. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 1084 - 1104.
- Da Silva FR, Kvitko K, Rohr P, Abreu MB, Thiesen FV, Da Silva J. 2014. Genotoxic assessment in tobacco farmers at different crop times. *Sci Total Environ*. 490: 334 - 341.
- Da Silva FR, Erdtmann B, Dalpiaz T, Nunes E, Ferraz A, Martins TL, Silva JD. 2013. Genotoxicity of *Nicotiana tabacum* leaves on *Helix aspersa*. *Genet Mol Biol*. 36: 269 - 275.