



Estudo dos efeitos do pesticida da classe glicina substituída sobre eritrócitos humanos.

Study of the class glycine substituted pesticide on human erythrocytes

Maria Thereza Alves Batista¹, Humberto Gabriel Rodrigues¹, Lúbia Cristina Fonseca¹, Ana Maria Bonetti¹, Nilson Penha-Silva¹, Alessandro Camilo Neres², Tales Alexandre Aversi-Ferreira^{2*}

¹Instituto de Genética e Bioquímica (INGEB), Universidade Federal de Uberlândia.

²Laboratório de Neurociências e Bioquímica (LABINE), Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás.

*Autor para correspondência: aversiferreira@hotmail.com

Palavras chave: *pesticida, eritrócito, hipóxia.*

1- INTRODUÇÃO

Os pesticidas são bioativos que podem prevenir, destruir ou combater espécies indesejáveis que possam interferir na produção, processamento, armazenamento e transporte de alimentos, agroprodutos, madeira e seus derivados (HOLLAND, P. T., 1996). As classes de pesticidas são constituídas por várias substâncias químicas com diferentes grupos funcionais, cada uma com particular modo de ação sobre alvos biológicos e ação danosa sobre outros organismos e ambiente (THEO COLBORN, 2006).

Atualmente os pesticidas são encontrados contaminando todo o planeta gerando vários problemas de saúde aos seres humanos e ameaçando a sobrevivência de várias outras espécies, (FLORES, A. V. et al, 2004) tendo a agricultura como seu principal meio de introdução no ambiente os aspectos danosos da aplicação de pesticidas afetam vários nichos ecológicos e os problemas de intoxicação exigem cuidados à saúde humana devido aos problemas de origem respiratória, epidérmica, e ingestão gradativa dos pesticidas presentes na água e nos alimentos (RAND, G. M. & PETROCELLI, S. R., 1985).

A integridade da membrana animal pode ser afetada por vários diferentes fatores (MCNEIL & STEINHARDT, 1997), que para a membrana do eritrócito compreendem aumento natural da velocidade do fluxo sanguíneo, temperatura, acidez, estresse oxidativo, e o atrito contra as paredes dos vasos sanguíneos, como ocorre durante a atividade física (TYULINA et al., 2000).

Neste trabalho foram testados os efeitos agudos de um pesticida (glicina substituída), nas concentrações recomendadas pelo fabricante, sobre a fragilidade osmótica de eritrócitos humanos. A ação de substâncias no organismo se inicia no sangue, e os efeitos sobre os eritrócitos podem causar hipóxia nos tecidos, assim os efeitos tóxicos de uma substância podem ser aumentados por esta ação e pode causar problemas de saúde aos humanos, além de problemas ecológicos.

2-MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de sangue (3 mL) foram coletadas com uma seringa contendo heparina, de uma veia intermédica ulnar de voluntários humanos homens e mulheres (9).

A estabilidade dos eritrócitos foi feita em soluções com diferentes concentrações do pesticida, aumentando homogeneamente de 5 em 5 μ L, até 40 μ L em 100mL de solução salina 0,9% NaCl, de acordo com as recomendações de quantidade mínima a máxima para uso na agricultura. Para cada frasco eppendorf de uma triplicata, foram adicionados 1mL da solução teste e 10 μ L de sangue. Após homogeneização e incubação a 37 °C por 30 minutos, os frascos foram centrifugados por 10 minutos a 2000 rpm, e o sobrenadante foi analisado por espectrofotometria visível a 540 nm.

A edição e análise estatística dos dados foram feitas com o software Origin 6.0 Professional (Microcal Inc.).

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os eritrócitos dos indivíduos utilizados neste estudo demonstraram-se sensíveis à ação do pesticida (figura 1). Após a análise da curva sigmoidal gerada pelos testes, pôde-se verificar que a destruição dos eritrócitos se iniciou em uma concentração aproximada de $33\mu\text{L}$ de agrotóxico, atingindo o DL_{50} (concentração onde 50% das hemácias já sofreram hemólise) ocorreu na concentração de $34,30\mu\text{L}$ (figura 2). Nos nove indivíduos analisados (figura 1) pôde-se observar uma alta similaridade na ação do pesticida, o que foi comprovado pelo teste "t" de Student que demonstrou a aceitação da hipótese de homogeneidade entre as médias para $p < 0,1$, o que indica que os efeitos do pesticida teve ação homogênea sobre os eritrócitos, neste caso ação destrutiva. A destruição dos eritrócitos ocorreu nas concentrações que foram recomendadas para o uso deste pesticida na agricultura (de 0,5 a 4,0%L/100L de água). Nossos dados demonstram tanto para as análises individuais (figura 1), como para a análise geral dos dados (figura 2) que os efeitos deste pesticida são graves sobre a estrutura da membrana plasmática dos eritrócitos.

Dentre os efeitos danosos causados pelos pesticidas podemos destacar suas ações mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas (IBAMA, 1996). A partir de nossos resultados podemos inferir que a toxicidade da glicina substituída, mesmo quando utilizada dentro das especificações do fabricante, gera lise celular (figuras 1 e 2) que pode causar inúmeras conseqüências ao organismo humano exposto a esta substância, inicialmente hipóxia tecidual. A estrutura celular é afetada quando ocorre lise da membrana e tais danos ocorrem nas diversas organelas, afetando o metabolismo celular e/ou morte, isso pode ser esperado mesmo usando a hemácia como referência.

A relação entre o contato com agrotóxicos e o aparecimento de náuseas, tonteadas, dores de cabeça, irritação cutânea, nervosismo, perda de apetite e tremores, dentre outros (DELGADO & PAUMGARTTEN, 2004) refletem o uso em concentrações indevidas destes produtos, e chama a atenção para o fato de que estas devem ser revistas, para o pesticida estudado neste trabalho, com certeza.

O Brasil, país onde o uso de agrotóxicos é bastante elevado, os riscos de intoxicação pelos mesmos torna-se maior, podendo esta ocorrer por via respiratória, cutânea ou mesmo alimentar, já que os agrotóxicos são aplicados nas culturas alimentícias. Outro fator relevante é que nem sempre as especificações do produto são seguidas no momento de sua aplicação, podendo as doses utilizadas serem maiores que as indicadas, gerando problemas ainda mais graves de saúde, portanto podendo ocorrer maior gravidade sobre a saúde humana. Estes produtos podem se acumular no ambiente, transformando o homem num de seus maiores depositários em longo prazo.

O agrotóxico da classe glicina substituída é um herbicida indicado para uso em inúmeras culturas agrícolas contra plantas infestantes, incluído na classe toxicológica IV, considerado como pouco perigoso pela legislação brasileira. Entretanto, os nossos estudos *in vitro* de seus efeitos sobre os eritrócitos demonstraram ação toxicológica sobre a membrana celular com conseqüências graves para a saúde humana e de animais silvestres e domésticos.

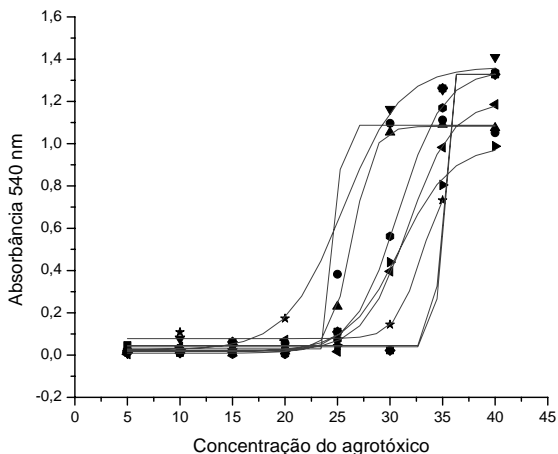


Figura 1: Dados plotados da absorbância a 540nm da hemoglobina em função de concentrações crescentes de pesticida (5 a $40\mu\text{L}/100\text{mL}$ de salina) para 9 amostras em triplicata.

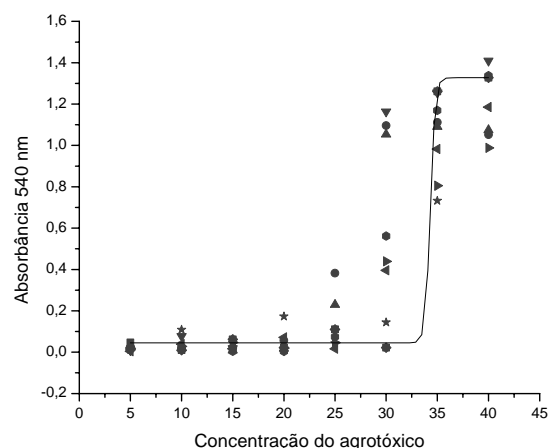


Figura 2: Dados plotados da absorbância a 540nm da hemoglobina em função de concentrações crescentes de pesticida (5 a $40\mu\text{L}/100\text{mL}$ de salina) para a média dos valores de DL_{50} das 9 amostras em triplicata.

4- CONCLUSÃO

O pesticida da classe glicina substituída causou lise dos eritrócitos humanos, dentro das concentrações indicadas pelo fabricante para uso na agricultura.

5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DELGADO, I. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Intoxicações e usos de pesticidas por agricultores do Município de Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brasil. Caderno de Saúde Pública, v.20, p. 180-185, jan-fev, 2004.

FLORES, A. V. et al. Organoclorados: um problema de saúde pública. Ambiente e Sociedade. v.7, n.2, p. 111-125, jul-dez, 2004.

HOLLAND, P. T.; Pure Applied Chemistry. 1996.

MCNEIL P. L.; STEINHARDT R A. Loss, restoration, and Maintenance of Plasma Membrane Integrity. J. Cell Biol. v.137,p. 1-4, n. 1, abril, 1997.

IBAMA, Portaria normativa nº 84 de 15 de outubro de 1996. Disponível: www.andef.com.br/legislação/port84.html [capturado em 10 de fevereiro 2006].

RAND, G. M., PETROCELLI, S. R. Fundamentals of Aquatic Toxicology Methods and Application, Washington, Hemisphere Publishing, 1985.

THEO COLBOM. A Case for Revisiting the Safety of Pesticides: A Closer Look at Neurodevelopment. Environm. Health Perspectives. v.114, n.1, p. 10-17, jan, 2006.

TYULINA, O.V. et al. In vitro effects of ethanol, acetaldehyde and fatty acid ethyl ester on human erythrocytes. Alcohol Alcohol, v.37, p. 179-186, 2002.