UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LILIANE WERLE LIMA

PESQUISA DE MIELOPEROXIDASE E OUTROS MARCADORES LABORATORIAIS EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS CRONICAMENTE A PRAGUICIDAS

PONTA GROSSA
2014

LILIANE WERLE LIMA

PESQUISA DE MIELOPEROXIDASE E OUTROS MARCADORES LABORATORIAIS EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS CRONICAMENTE A PRAGUICIDAS

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Vellosa

PONTA GROSSA
2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Lima, Liliane Werle

L732 Pesquisa de mieloperoxidase e outros marcadores laboratoriais em indivíduos expostos cronicamente a praguicidas/ Liliane Werle Lima. Ponta Grossa, 2014.
49f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador: Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Vellosa.

1.Praguicidas. 2.Inflamação. 3.Mieloperoxidase. I.Vellosa, José Carlos Rebuglio. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. III. T.

CDD: 616

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

Associação Ampla entre a Universidade Estadual do Centro-Oeste e a Universidade Estadual de Ponta Grossa

Ata nº. 08/2014

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO – NÍVEL DE MESTRADO, DA PÓS-GRADUANDA **LILIANE WERLE LIMA**, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, REALIZADA NO DIA 10 DE NOVEMBRO DE 2014, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

Ao décimo dia do mês de novembro de dois mil e quatorze, às 15h20min, no Auditório do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, sala 115 – Bloco M, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, sob a presidência do Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Vellosa, em sessão pública, reuniu-se a banca examinadora para a defesa de dissertação da pós-graduanda Liliane Werle Lima. Área de concentração: Fármacos, medicamentos e biociências aplicadas à Farmácia. Linha de Pesquisa: Avaliação clínico/laboratorial de processos fisiopatológicos. A banca foi constituída pelos pesquisadores: Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Vellosa, Prof. Dr. Gustavo Henrique Frigieri Vilela, Prof. Dr. Edmar Miyoshi e Prof. Dr. Fábio André dos Santos , indicados pelo egrégio colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – nível de Mestrado Acadêmico, desta Universidade, em associação ampla com a Universidade Estadual do Centro-Oeste. Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e à candidata das normas que regem a defesa de dissertação e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para a arguição. O trabalho analisado foi **"Pesquisa de mieloperoxidase e outros marcadores laboratoriais em indivíduos expostos cronicamente a praguicidas".** Encerrada a defesa de dissertação, procedeu-se o julgamento, tendo sido a candidata APROVADA. Foi dada ciência à mestranda que, de acordo com o Art. 34 do Regulamento do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - UNICENTRO/UEPG, *para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração Fármacos, Medicamentos e Biociências aplicadas à Farmácia, o aluno tem o prazo de 30 (trinta) dias após esta defesa para entregar as cópias da versão definitiva, que devem ser aprovadas pelo orientador e homologadas pelo Colegiado de curso.* Nada mais havendo a tratar, lavrou-se à presente ata que vai assinada pelos membros da banca examinadora e por mim, Jessica Leme Cano, Jessica Leme Cano, secretária do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela UEPG. Ponta Grossa, 10 de novembro de 2014.

Observação (se necessária):_____

Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Vellosa

Prof. Dr. Gustavo Henrique Frigieri Vilela

Prof. Dr. Edmar Miyoshi

Prof. Dr. Fábio André dos Santos

.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a participação na execução deste trabalho: José Carlos Rebuglio Vellosa, Gisele Chibinski Parabocz, Josilaine Tonin Ribas, Franciele Maciel Cesar, Paula Zanchetti e Francine Alessandra Manente pela responsabilidade e contribuição técnica.

Ao Prof. Dr. Fabio André dos Santos pelo suporte estatístico

À Prefeitura Municipal de Serranópolis do Iguaçu pelo apoio financeiro para execução da pesquisa.

RESUMO

Os praguicidas são largamente utilizados em todo o planeta para controle de pragas e garantia de aumento de produtividade. Assim como são nocivos para insetos e ervas daninhas, também são tóxicos para os seres humanos. Os pesticidas estão relacionados com alterações do sistema imunológico, nervoso, endócrino, alem de interferir no metabolismo. A exposição aos praguicidas é monitorada pela dosagem de biomarcadores, especialmente a colinesterase, e através de alterações em exames laboratoriais. Os pesticidas mais usados são aqueles pertencentes à classe dos organofosforados, que tem como mecanismo de ação a inibição irreversível das colinesterases. Estando os pesticidas envolvidos em alterações do sistema imunológico, e com a doença cardiovascular, este estudo teve por objetivo avaliar a atividade da enzima mieloperoxidase (presentes em células fagocíticas) em indivíduos expostos cronicamente a pesticidas, alem de outros marcadores laboratoriais. Este estudo incluiu 79 voluntários, divididos em 3 grupos: 1) EDP: exposição direta aos praguicidas; 2)EIP: exposição indireta aos praguicidas; e 3) C: controle, voluntários com pouca ou nenhuma exposição aos praguicidas. Foram realizados exames laboratoriais para dosagem de glicose, colesterol total e frações, triglicerídeos, TGO, TGP, ureia, creatinina, mieloperoxidase (MPO), alfa-1-glicoproteína ácida (AGP), proteína C reativa ultrassensível (PCR-us), colinesterase, capacidade antioxidante total e hemograma. Ocorreram aumentos significativos na ureia no grupo EDP. Níveis elevados de MPO, AGP e glicose foram encontrados para os grupos EDP e EIP. A PCR-us apresentou correlação direta com os valores de AGP, contudo mostrou-se elevada apenas para o grupo EIP. Significante redução na capacidade antioxidante total do soro foi encontrada nos grupos EDP e EIP. A colinesterase apresentou valores de atividade significativamente maiores no grupo EDP. Com estes resultados concluímos que a exposição crônica aos pesticidas pode levar a um aumento adaptativo da atividade da colinesterase resultando em diminuição da ação anti-inflamatória da acetilcolina, com aumento dos níveis de mieloperoxidase e outros marcadores da inflamação.

Palavras-chave: praguicidas; inflamação; mieloperoxidase

ABSTRACT

Pesticides are widely used around the world for pest control and guarantee increased productivity. As is harmful to insects and weeds, are also toxic to humans . Pesticides are related to alterations of the immune system, are neurotoxic, and involved with alterations em endocrine system, besides interfering with metabolism. Exposure to pesticides is monitored by measurement of biomarkers, especially cholinesterase , and through changes in laboratory tests. The most commonly used pesticides are those belonging to the class of organophosphates, whose mechanism of action is irreversible inhibition of cholinesterase. Pesticides being involved in alterations of the immune system, and cardiovascular disease, this study aimed to evaluate the activity of myeloperoxidase (present in phagocytic cells) in individuals chronically exposed to pesticides, in addition to other laboratory markers. This study included 79 volunteers , divided into 3 groups : 1) EDP : direct exposure to pesticides ; 2) EIP : indirect exposure to pesticides , and 3) C : control, volunteers not exposed, or low exposure to pesticides. Laboratory tests for glucose, total cholesterol and fractions , triglycerides , AST, ALT, urea, creatinine, myeloperoxidase (MPO) , alpha-1- acid glycoprotein (AGP), high sensitive C-reactive protein (Hs-CRP), total antioxidant capacity, cholinesterase were performed and CBC . There were significant increases in urea in the EDP group. High levels of MPO, AGP and glucose were found for the EDP and EIP groups. The Hs-CRP showed a direct correlation with the values of AGP, but was elevated only for the EIP group. Significant reduction in total antioxidant capacity of serum was found in groups EDP and EIP. The cholinesterase values showed significantly higher activity in the EDP group. With these results we concluded that chronic exposure to pesticides can lead to an adaptive increase in cholinesterase activity resulting in decreased anti-inflammatory action of acetylcholine, with increased levels of myeloperoxidase and other markers of inflammation.

Keywords: pesticides, inflammation, myeloperoxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Parâmetros laboratoriais, glicemia e ureia, para os grupos estudados com média e erro padrão da média.....pg 25

Figura 2 – Média e Erro padrão da média para Colinesterase, Capacidade antioxidante total, Proteína C-reativa, Mieloperoxidase e Alfa -1-glicoproteína ácida .....pg 28

Figura 3 – Prevalência de sinais relacionados à exposição crônica aos praguicidas nos grupos com e sem exposição.....pg 31

Figura 4 – Prevalência de sinais relacionados à exposição aguda aos praguicidas nos grupos com e sem exposição.....pg 32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos grupos estudados (Média ± desvio padrão).……...…….pg 24

Tabela 2 – Principais classes de agrotóxicos citados pelos entrevistados expostos ocupacionalmente aos praguicidas.....pg 24

Tabela 3 – Média ± desvio padrão (intervalo de confiança) das análises bioquímicas para os grupos.....pg 26

Tabela 4 – Média ± desvio padrão (intervalo de confiança) dos parâmetros hematológicos dos grupos.....pg 30

LISTA DE ABREVIATURAS

α1-GPA – Alfa-1 glicoproteína ácida
ABTS - 2,2"–azinobis (3–etilbenzotiazolina–6–ácido sulfônico)
AChE – Acetilcolinesterase
AGP – alfa-1-glicoproteína ácida
ALT – Alanina aminotransferase
ANOVA - análise de variância
AST – Aspartato aminotransferase
BChE - Butirilcolinesterase
CAT – capacidade antioxidante total
ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERO – Espécie reativa do oxigênio
HDL - lipoproteína de alta densidade
IL-1 – Interleucina 1
IL-6 – Interleucina 6
LDL - lipoproteína de baixa densidade
MPO – Mieloperoxidase
PCRus – Proteína C reativa ultrassensível
SINITOX – Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas
TNF-α – Fator de necrose tumoral-α
VHS – Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 09
2 REVISÃO DA LITERATURA..... 11
2.1 PRAGUICIDA..... 11
2.2 MIELOPEROXIDASE E OUTROS MARCADORES..... 15
3 OBJETIVOS..... 17
3.1 OBJETIVO GERAL..... 17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 17
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL..... 18
4.1 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA..... 19
4.1.1 Hemograma completo..... 19
4.2 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA POR ENSAIOS IMUNOLÓGICOS..... 19
4.2.1 Proteína C reativa..... 19
4.2.2 Alfa-1 Glicoproteína Ácida..... 20
4.2.3 Mieloperoxidase..... 20
4.3 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS DO METABOLISMO..... 20
4.3.1 Perfil Lipídico..... 20
4.3.2 Glicemia De Jejum..... 21
4.3.3 Aspartato aminotransferase..... 21
4.3.4 Alanina aminotransferase..... 22
4.3.5 Creatinina..... 22
4.3.6 Uréia..... 22
4.3.7 Colinesterase..... 22
4.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL..... 23
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 24
6 CONCLUSÃO..... 33
REFERÊNCIAS..... 34
ANEXO A – Parecer COEP UEPG..... 45

1 INTRODUÇÃO

Os praguicidas são amplamente usados na agricultura e em domicílios, com o objetivo de combater pragas ou aumentar a produtividade. O Brasil é um dos grandes consumidores mundiais de agrotóxicos, o que torna a população brasileira bastante vulnerável a ação destes compostos (VEIGA et al, 2006).

Os pesticidas estão envolvidos com a incidência de várias patologias, tanto nas exposições agudas quanto crônicas. Estes agentes estão relacionados a doenças inflamatórias e crônicas, como diabetes, artrite reumatoide e doenças neurodegenerativas, além de alterar as respostas imunológicas em indivíduos expostos a eles. (BRITO, GOMIDE, CAMARA, 2008).

Há carência de biomarcadores para a exposição aos agrotóxicos, sendo que a maioria dos laboratórios realiza apenas a determinação da atividade da colinesterase, a qual avalia a exposição apenas aos inseticidas organofosforados, e, ainda, se encontra alterada somente nos casos de intoxicação aguda (FARIA, FASSA, FACCHINI, 2007). É evidente a carência de mais, e melhores, biomarcadores de exposição aos praguicidas, principalmente os indicadores biológicos de efeito da exposição aos mesmos (KEIFER; GASPERINI, ROBSON, 2010).

Nos últimos anos, têm ocorrido mudanças expressivas na compreensão dos riscos e da patogênese de uma série de doenças crônicas com inflamação subclínica e que constituem crescente causa da morbimortalidade em todo o mundo. Segundo Volp et al (2008), o processo inflamatório é o elo entre a síndrome metabólica e as doenças cardiovasculares. Para medir o grau da inflamação subclínica, vários biomarcadores inflamatórios têm sido propostos. A reação de inflamação induzida pelos fatores de risco e a resposta imunológica associada são os principais eventos que conduzem ao processo de aterogênese conjuntamente com a Síndrome Metabólica (VOLP et al, 2008). Desta forma, diferentes estudos tem tentado evidenciar alterações bioquímicas e imunológicas em diferentes condições que fogem ao trabalho fisiológico.

Muitos estudos demonstram que a mieloperoxidase (MPO) é um biomarcador sensível e precoce de risco cardiovascular (ESPORCATTE et al, 2007; TANG et al, 2011; ZHANG et al, 2001), contudo, não há estudos relacionando a avaliação da mieloperoxidase para monitoramento de risco cardiovascular em indivíduos expostos a praguicidas.

O papel da MPO ainda precisa ser melhor definido na prática clínica, mas, com base em estudos recentes, a MPO pode ser uma forte candidata a marcador de risco cardíaco e

diagnóstico de doenças coronarianas e também para o acompanhamento da evolução do quadro clínico dessas pacientes (BORATO et al, 2012). Existindo a possibilidade de a MPO se encontrar elevada precocemente em pacientes em que os marcadores cardíacos disponíveis atualmente não estão alterados, mas apresentem elevado risco cardíaco, trabalhos que visem definir, ou auxiliar a definição dos intervalos de referência para os níveis de mieloperoxidase em condições de saúde e doença são muito importantes, especialmente frente a exposição aos praguicidas que muitas vezes não apresentam manifestação de sintomas, encontrando-se em estado subclínico de alterações patológicas.

Desta maneira, estudamos a possibilidade de a mieloperoxidase se encontrar alterada em indivíduos expostos a substâncias que aumentam o risco de doença cardiovascular; o trabalho visa definir, ou auxiliar na definição de intervalos de referência para a mieloperoxidase, em condições de saúde e doença, principalmente em indivíduos expostos a praguicidas, que muitas vezes não apresentam sintomas agudos, e tem a exposição crônica negligenciada.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PRAGUICIDA

Praguicida é qualquer substância, ou mistura de substâncias, capazes de prevenir, controlar ou destruir uma praga, incluindo vetores de doenças humanas ou animais, plantas daninhas e animais que possam danificar ou interferir na produção, processamento, armazenamento, transporte ou comercialização de alimentos, produtos agrícolas, madeira, ração animal, ou substâncias utilizadas para controle de insetos, aracnídeos ou pragas em animais (FDA, 2002).

No que diz respeito a agricultura, o uso de agrotóxicos é um dos recursos mais utilizados para elevar a produtividade agrícola. Quando aplicados, esses agrotóxicos podem contaminar o ambiente, como o solo e os sistemas hídricos, levando a uma degradação ambiental, a qual traz como consequência prejuízos à saúde, bem como alterações significativas nos ecossistemas (VEIGA et al, 2006).

No Brasil, a agricultura passa por um processo contínuo de modernização através de novas tecnologias, a fim de aumentar a competitividade no mercado internacional (JOBIM et al, 2010). Essas alterações tecnológicas nas características químicas dos agrotóxicos por um lado gera um crescimento econômico, mas, por outro, eleva e prolonga o potencial nocivo dos agrotóxicos. Por isso a preocupação de profissionais de saúde com a contaminação dos sistemas hídricos, principalmente pelo fato de, nos últimos anos, ocorrer um aumento no uso desses agrotóxicos (VEIGA et al, 2006).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária a safra 2010/2011 brasileira movimentou cerca de 936 mil toneladas de agrotóxicos, o que corresponde a 20% do gasto mundial, tornando o Brasil o maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Estima-se que tenham sido utilizados 4,5 litros de agrotóxicos por habitante no território nacional (CARNEIRO et al, 2012).

Além do uso agrícola dos praguicidas, estas substâncias são usadas amplamente na produção de alimentos, nos domicílios, e em saúde pública para controle de vetores, sendo que eles se espalham pelo ambiente e contaminam tanto a vida selvagem quanto humanos. Estas substâncias são muito tóxicas para todos os organismos vivos e estão associados ao câncer, neurodegeneração e doenças crônicas, causando milhões de intoxicações pelo mundo (HERNANDEZ et al, 2012; MARETTO et al, 2012; VAN DER CHANS et al, 2013).

Vários são os efeitos que os agrotóxicos podem trazer à saúde. Além dos danos agudos, muitos danos crônicos vêm sendo relatados, dentre os quais se destacam patologias de pele, teratogênese, desregulação endócrina, neurotoxicidade, efeitos no sistema imunológico, além desses agentes estarem relacionados com o desenvolvimento de morbidades crônicas como as neoplasias (BRITO, GOMIDE, CAMARA, 2008).

Segundo o Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas (SINITOX, 2010), ocorreram 4789 casos de intoxicação aguda por agrotóxicos no Brasil em 2010, sendo que destes, 171 casos evoluíram para óbito. Não existem estimativas a respeito das intoxicações crônicas por praguicidas.

Estudos demonstram que os praguicidas estão relacionados com a produção de espécies reativas do oxigênio, alterando o equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes; promovendo a peroxidação lipídica, diminuindo os níveis celulares de antioxidantes e estabelecendo o estresse oxidativo. As consequências deste incluem dano tecidual e apoptose, participando no desenvolvimento de varias patologias (AGRAWAL & SHARMA, 2010; ETEMADI-ALEAGHA, AKHGARI & ABDOLLAHI, 2002).

A exposição humana aos pesticidas pode ser ocupacional, ambiental, ou alimentar (CECCHI et al, 2012), e as intoxicações podem ocorrer por manuseio incorreto dos pesticidas, tanto nos casos agudos quanto crônicos (MARETTO et al, 2012).

Dentre os inseticidas mais utilizados na agricultura se encontram aqueles pertencentes às classes dos organofosforados e dos carbamatos, que estão associados a efeitos danosos para a saúde, alteram a função endócrina, o metabolismo, a função reprodutiva e fertilidade (afeta a qualidade do sêmen), o desenvolvimento fetal e câncer (MARETTO et al, 2012; MIRANDA-CONTRERAS et al, 2013).

Estes compostos químicos são inibidores da acetilcolinesterase (AChE), presente nos terminais nervosos e eritrócitos, assim como da butirilcolinesterase (BChE), localizada no plasma. Os organofosforados se ligam covalentemente ao sítio ativo serina das colinesterases, inibindo irreversivelmente estas enzimas (JIANG et al, 2013).

A inibição da acetilcolinesterase leva ao acúmulo da acetilcolina nas sinapses nervosas e junções neuromusculares prolongando a estimulação colinérgica com o desenvolvimento de vários sinais, incluindo complicações sérias, como distúrbios cardíacos (bradicardia ou taquicardia, hipertensão) e da função respiratória (MARETTO et al, 2012).

A butirilcolinesterase recebe esse nome por sua preferência pela butirilcolina como substrato. Esta enzima é sintetizada no fígado e tem papel fisiológico incerto. Sabe-se que ela

é capaz de detoxificar o organismo, metabolizando procaína, cocaína, succinilcolina, heroína, ácido acetilsalicílico, e protege das intoxicações por inibidores colinesterásicos (POHANKA, 2011).

As medidas da inibição das colinesterases também são aceitas como biomarcadores de exposição aos organofosforados e carbamatos (MIRANDA-CONTRERAS et al, 2013), sendo a butirilcolinesterase um eficiente marcador da exposição aos pesticidas organofosforados e muitas vezes utilizada como indicador de exposição geral aos praguicidas (JIANG et al, 2013).

Outra classe de praguicidas bastante utilizada é a dos piretróides, inseticidas sintéticos derivados das piretrinas, constituintes do inseticida natural píretro, presente no crisântemo. A lipofilicidade dos piretróides favorece a absorção oral e pelo trato respiratório, além de sua distribuição para tecidos ricos em gordura, incluído tecidos adiposos e componentes do sistema nervoso central e periférico. Os inseticidas desta classe são metabolizados por esterases e pelo citocromo P-450, gerando metabólitos menos tóxicos facilmente excretados. Os principais efeitos observados na intoxicação por piretróides são a neurotoxicidade excitatória, sendo classificados em duas subclasses, de acordo com as síndromes tóxicas: T (tremor) e CS (coreoatetose e salivação). Estes efeitos são resultado da ação dos piretróides sobre os canais de sódio, os canais de cálcio (que pode levar a liberação de neurotransmissores), e canais de cloro (SODERLUND et al, 2002).

A classe de herbicidas mais utilizada na agricultura é a do glifosato [*N*-(*phosphoromethyl)glycine*]. É um herbicida de amplo espectro, usado principalmente na agricultura para controle de ervas daninhas (AYOOLA, 2008). Este agente pode alterar parâmetros metabólicos, incluído oxidação de biomoléculas, alteração em antioxidantes, e enzimas (ROMERO et al, 2011). Já é conhecido que alguns pesticidas aumentam os níveis de espécies reativas do oxigênio, levando a oxidação lipídica e reposta antioxidante (AGRAWAL, SHARMA, 2010).

No Brasil, a Norma Regulamentadora 7 (NR7), do Ministério do Trabalho, que define o Programa de controle médico de saúde ocupacional, determina que para o controle da exposição por praguicidas seja realizada a pesquisa da atividade das colinesterases (BRASIL,1978).

Assim, o monitoramento da exposição aos praguicidas pode ser realizado através da constatação da inibição das colinesterases no sangue, ou ainda pela pesquisa do pesticida

intacto no sangue, pela detecção dos produtos biotransformados na urina, e pela reativação pelo método de fluoreto (VAN DER CHANS et al, 2013).

É importante monitorar a exposição e condições de saúde dos trabalhadores rurais para conhecer os riscos e prevenir potenciais níveis perigosos de exposição aos pesticidas (MIRANDA-CONTRERAS et al, 2013). Os pacientes intoxicados requerem cuidados como lavagem, respiração artificial, antídotos (atropina, oximas, diazepam) (VAN DER CHANS et al, 2013).

As intoxicações agudas e crônicas são muito estudadas, e se manifestam por alterações hormonais, alteração das funções hepática e renal, alterações hematológicas, aumento do risco para diabetes tipo 2 (CECCHI et al, 2012), aumento nos níveis de proteínas no plasma e no cérebro, aumento de enzimas detoxificadoras (SELMI, EL-FAZAA, GHARBI, 2012) e estresse oxidativo (HERNANDEZ et al, 2012).

O envolvimento dos praguicidas com o estresse oxidativo se dá: **i)** pelo aumento da formação de espécies reativas do oxigênio (ERO), em especial o peróxido de hidrogênio, o ânion superóxido, e o radical hidroxila; **ii)** pela diminuição das defesas antioxidantes; **iii)** pela promoção da peroxidação lipídica. A ação pró-oxidativa dos pesticidas pode estar envolvida com a neurotoxicidade destes agentes (HERNANDEZ et al, 2012; SELMI, EL-FAZAA, GHARBI, 2012; SHARMA et al, 2013).

O estresse oxidativo vem sendo relacionado com inúmeras patologias, incluindo as doenças inflamatória crônicas, como artrite reumatóide, vasculite, hepatite, pancreatite, aterosclerose, entre outros distúrbios inflamatórios (ABDOLLAHI et al, 2006).

As colinesterases se alteram em condições inflamatórias, sendo consideradas marcadores de inflamação em um estudo com coelhos (COSTA et al, 2012). As alterações nas respostas inflamatórias causadas pelos praguicidas podem ser monitoradas por diversos marcadores, como a proteína C reativa, que é sintetizada principalmente nos hepatócitos e regulada pelas interleucinas 6 (IL-6) e 1 (IL-1), dentre outras citocinas. Antigamente, acreditava-se que a PCR seria somente um marcador de inflamação vascular, mas estudos demonstraram papel na doença aterosclerótica. Devido ao desenvolvimento de técnicas de sensibilidade aumentada (PCR ultrassensível), esta proteína passou a ser também um importante biomarcador para eventos cardíacos a longo prazo (SILVA, MORESCO, 2011).

O interesse no estudo de proteínas inflamatórias de fase aguda tem crescido nos últimos anos, uma vez que pequenos aumentos em sua produção estão associados a um aumento no risco de doença cardiovascular. Além da PCR, a alfa-1 glicoproteína ácida (α1-

GPA) também é uma proteína de fase aguda, cuja secreção é regulada pela interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e do fator de necrose tumoral-α (TNF-α), importantes mediadores da resposta inflamatória e imune. Desta forma, a α1-GPA poderia ser um dos possíveis marcadores de risco cardíaco (PICCIRILLO et al, 2004).

A interleucina 6 é uma citocina pró-inflamatória e mediador intracelular, que é produzida por várias células do organismo, sendo sua concentração plasmática presente na formação da placa ateromatosa e sua ruptura. A IL-6 está ligada com a regulação das outras citocinas, tais como a IL-1 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α). Desta forma, ela está envolvida na síndrome coronariana aguda, estimulando a produção de fibrinogênio e PCR, e, consequentemente, a produção de fator tecidual e metaloproteinases da matriz por macrófagos, a agregação plaquetária, expressão de moléculas de adesão e a multiplicação de células musculares lisas vasculares. Também é confirmado que a IL-6 está relacionada com a vulnerabilidade e erosão da placa aterosclerótica (SILVA, MORESCO, 2011).

2.2 MIELOPEROXIDASE E OUTROS MARCADORES

A mieloperoxidase (MPO) é uma hemeproteína que é estocada nos grânulos azurófilos dos macrófagos e neutrófilos polimorfonucleares. A MPO cataliza a conversão de cloreto e peróxido de hidrogênio em hipoclorito e é secretada durante o processo inflamatório. Esta enzima está implicada na oxidação da LDL-c, consumo do oxido nítrico derivado do endotélio, impedindo suas ações vasodilatadoras e anti-inflamatórias. MPO é constantemente associada com a presença de instabilidade de placa e risco de futuros eventos de doença arterial coronariana (LORIA et al, 2008).

Fisiologicamente, a MPO tem papel bactericida quando liberada pelos neutrófilos, monócitos e macrófagos, é armazenada em grande quantidade nos grânulos azurófilos de células em repouso (ARNHOLD, FLEMMIG, 2010; NICHOLLS, HAZEN, 2009; ROMAN, WENDLAND, POLANCZYC, 2008).

Esta enzima catalisa a formação de numerosas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, oxidantes que contribuem para o dano tecidual durante a inflamação. Os leucócitos polimorfonucleares se acumulam nos locais de inflamação e contribuem para defesa e dano tecidual por meio de endocitose de corpo estranho e secreção de enzimas intracelulares, como a elastase, endopeptidases e mieloperoxidase. A MPO também está associada à evolução da doença cardiovascular, incluindo todas as fases do processo

aterosclerótico (ARNHOLD, FLEMMIG, 2010; ROMAN, WENDLAND, POLANCZYC, 2008; STAMP et al, 2014).

A MPO está envolvida no desenvolvimento de doenças cardiovasculares por seu poder pró-aterogênico. Ela atua desestabilizando o endotélio, alterando o tônus vasomotor, modifica a produção de óxido nítrico e oxida molécula de lipoproteína de baixa densidade (LDL - colesterol) (NICHOLLS, HAZEN, 2009).

Alguns autores relatam aumento da mieloperoxidase em infarto agudo do miocárdio e *angina pectoris*, acompanhado pelo aumento dos níveis de proteína C reativa ultrassensível (LOBBES et al, 2010). Entretanto, há, ainda, contradição na investigação sobre essa enzima. Outros autores quantificaram a mieloperoxidase em pacientes com doenças coronarianas estáveis e não encontraram aumento significativo nesse grupo de estudo (KUBALA et al, 2008). Gandley e colaboradores (2008) encontraram resultados elevados da mieloperoxidase em placentas de gestantes com pré-eclampsia, enquanto Hung e colaboradores (2012) analisaram nesses mesmos grupos e prematuros sem obter resultados esperados. Desta forma, há necessidade de estudos adicionais para que se possa acrescentar a MPO a prática clínica.

Pela MPO estar envolvida na oxidação da lipoproteína de baixa densidade do colesterol (LDL-C) e na ativação de metaloproteinases, tendo como consequência a instabilidade e ruptura da placa de ateroma, na biodisponibilidade do óxido nítrico, observa-se elevada sensibilidade e especificidade na elevação da MPO com bom potencial de aplicação para o auxílio diagnóstico de necrose miocárdica e valor prognóstico para eventos cardiovasculares (ESPORCATTE et al, 2007).

Alguns mecanismos bioquímicos estão relacionados com a atividade da mieloperoxidase, tais como: catálise da oxidação lipídica, promoção do estresse oxidativo, ativação das proteases e aumento da trombogenicidade, e como consequência, a formação de células espumosas, agregação plaquetária, ativação de leucócitos, lesão vascular, promoção da aterogênese e formação de trombo. Surge assim, o interesse clínico da mieloperoxidase, como um biomarcador inflamatório, o que contribuiria para detecção e avaliação preventiva do risco da doença arterial coronariana, relacionados com placas de ateroma e disfunção endotelial (ROMAN, WENDLAND, POLANCZYC, 2008).

Muitos estudos demonstram que a mieloperoxidase é um biomarcador sensível e precoce de risco cardiovascular (ESPORCATTE et al, 2007; TANG et al, 2011; ZHANG et al, 2001), contudo, poucos estudos relacionam a avaliação da mieloperoxidase para monitoramento de risco cardiovascular em indivíduos expostos a praguicidas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

É objetivo geral deste trabalho, avaliar os níveis de mieloperoxidase em indivíduos expostos a praguicidas, relacionando a outros fatores metabólicos e parâmetros laboratoriais no auxílio diagnóstico da intoxicação por praguicidas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Definir se a MPO encontra-se elevada no soro de indivíduos expostos a praguicidas; relacionar os níveis séricos de mieloperoxidase aos de outros marcadores inflamatórios; relacionar os níveis séricos de MPO à condição clínica dos indivíduos expostos aos praguicidas, auxiliando no esclarecimento dos valores de referência para MPO em indivíduos expostos e não-expostos; avaliar o *status* antioxidante no soro dos indivíduos expostos aos praguicidas.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi realizada no município de Serranópolis do Iguaçu e Ponta Grossa, no estado do Paraná. Para a escolha dos locais foram levadas em consideração as seguintes condições: intensa atividade agrícola; existência de indivíduos expostos ocupacionalmente aos praguicidas; existência de indivíduos residentes nas áreas próximas ao plantio e utilização dos praguicidas, porém sem contato direto com os mesmos; e indivíduos moradores da zona urbana, com contato reduzido com praguicidas. Os voluntários da pesquisa foram selecionados a partir dos agricultores fumicultores, pois esta cultura, o fumo, demanda serviços manuais e maior contato com as plantas e na aplicação dos pesticidas.

O voluntário da pesquisa atendeu aos seguintes critérios: ser uma pessoa hígida que tenha capacidade civil de participar da pesquisa, com idade entre 19 e 60 anos, de ambos os sexos. Os critérios de exclusão foram: ser portador de doença infectocontagiosa, doença crônica inflamatória, fumante.

Foram estudados 3 grupos: i) Grupo1 (EDP): grupo de exposição direta aos praguicidas, indivíduos que estejam expostos ocupacionalmente a praguicidas. ii) Grupo 2 (EIP): grupo de exposição indireta aos praguicidas, indivíduos que residem nos arredores das plantações. iii) Grupo 3 (C-Controle): indivíduos com baixo contato com praguicidas foram selecionados indivíduos que residem longe do local de aplicação dos agrotóxicos, em outra cidade.

Foram selecionados indivíduos que aceitaram participar como voluntários da pesquisa, após esclarecimento sobre a pesquisa. Foram excluídos os voluntários que, a qualquer momento solicitaram exclusão de sua participação. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, via Plataforma Brasil (Ministério da Saúde) com parecer consubstanciado numero 109.879 de 27 de setembro de 2012 (Anexo 1).

Os voluntários da pesquisa responderam a um questionário sobre condição socioeconômica e de saúde; além de permitirem a coleta de material biológico para análises laboratoriais.

Foram analisados diferentes parâmetros hematológicos, imunológicos e bioquímicos que auxiliaram nas avaliações do estado geral de saúde ou de doença dos voluntários da pesquisa. Para tal coletou-se aproximadamente 20 ml de sangue, divididos em um tubo de

hemograma (EDTA) e dois tubos “secos” (com gel de separação) para os ensaios imunológicos e bioquímicos.

Desta forma, dosaram-se marcadores de processos inflamatórios para correlação com o estado de saúde dos indivíduos. Além disso, avaliou-se a capacidade antioxidante do soro dos voluntários e os níveis de mieloperoxidase sérica como possível novo parâmetro inflamatório e de risco cardíaco para os grupos estudados.

Os parâmetros avaliados foram dosados conforme procedimento laboratorial padrão, em concordância com as instruções dos fabricantes dos kits e técnicas padronizadas no Laboratório Universitário de Análises Clínicas (LUAC-UEPG).

Dentre os parâmetros avaliados, realizados no LUAC-UEPG: **i)** Hemograma completo, **ii)** proteína C reativa (PCR), **iii)** alfa-1-glicoproteína ácida (AGP), **iv)** Determinação do perfil lipídico (colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol e triglicerídeos séricos), **v)** glicemia de jejum, **vi)** determinação do perfil hepático (aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e **vii)** perfil renal (ureia e creatinina).

Mensurou-se, no laboratório 21, Bloco M – UEPG, bioindicador de exposição aos praguicidas (atividade sérica da colinesterase), ensaios de capacidade antioxidante do soro e mieloperoxidase, por meio de kits comercialmente disponíveis (colorimétrico enzimático para colinesterase, e ELISA colorimétrico para MPO) e técnica padronizada em nosso laboratório para avaliação da capacidade antioxidante sérica.

4.1 AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA

4.1.1 Hemograma Completo

Contagem hematológica das amostras de sangue total (EDTA) realizada no contador hematológico automatizado Cell-Dyn 1400, e a contagem diferencial de leucócitos através da leitura de lâmina corada pelo método de May-Grünwald-Giemsa em microscópio óptico (LEWIS et al, 2006).

4.2 AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA POR ENSAIOS IMUNOLÓGICOS

4.2.1 Proteína C Reativa (PCR)

A proteína C reativa ultrassensível foi determinada pelo kit específico da DiaSys® (Diagnostic Systems GmbH & Co.KG). A metodologia utilizada é turbidimétrico. As

partículas do látex recobertas com anticorpos anti-PCR humana, são aglutinadas por PCR presente na amostra. O processo de aglutinação provoca um aumento na absorbância proporcional à concentração de PCR na amostra, que é medida por comparação com um calibrador de PCR de concentração conhecida (PCR ULTRASSENSÍVEL, 2008/9). Este ensaio foi realizado com controles normais e patológicos juntamente com as amostras.

4.2.2 Alfa-1 Glicoproteína Ácida

Utilizado o kit "AGP Kovalent®". A determinação quantitativa da alfa-1 glicoproteína ácida é realizada no soro através de imunoensaio (reação antígeno-anticorpo) turbidimétrico. A leitura encontrada para as amostras em 340nm é comparada com a curva padrão para se estabelecer o valor da concentração de alfa-1 glicoproteína ácida (AGP, 2010).

4.2.3 Mieloperoxidase (MPO)

Utilizou-se o kit "Human Myeloperoxidase", fabricado pela Immunology Consultants Laboratory e comercializado pela *Cell Biosciences*, no qual a MPO é determinada através de reações específicas com anticorpo anti-MPO humana no teste ELISA tipo sanduíche. A MPO presente no soro reage com anticorpos anti-mieloperoxidase adsorvidos na superfície da placa. Após a lavagem anticorpos anti-MPO conjugados com *horseradish* peroxidase são adicionados. Depois de outra lavagem, é adicionado o substrato cromógeno (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina). A absorbância em 450nm é proporcional à quantidade de MPO na amostra, que pode ser calculada a partir de uma curva de calibração, conforme instruções do fabricante.

4.3 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS DO METABOLISMO

4.3.1 Perfil Lipídico

O perfil lipídico dos voluntários da pesquisa foi analisado e avaliado pela dosagem de colesterol total, HDL-colesterol, triglicerídeos e LDL- colesterol (calculado) nos soros.

Para a quantificação do colesterol total, foi utilizado o kit "Colesterol CHOD-PAP Kovalent®", pelo teste fotométrico enzimático. Neste ensaio o éster de colesterol presente na amostra é hidrolisado e em seguida oxidado, gerando peróxido de hidrogênio. Este, já sob a

ação catalítica da peroxidase, em presença de 4-aminoantipirina e fenol, gera quinonimina, o indicador colorimétrico da reação (Reação de Trinder) (COLESTEROL CHOD-PAP, 2010).

O HDL-colesterol foi determinado através do kit "HDL-C Imuno Kovalent®". Este kit contém anticorpos β–lipoproteína humana, que formam complexos com LDL-colesterol, VLDL-colesterol e quilomícrons, deixando apenas o HDL-colesterol livre para reagir enzimaticamente com a colesterol oxidase e a colesterol esterase. Um dos produtos desta reação é o peróxido de hidrogênio, que sob ação da peroxidase, reage com F-DAOS e 4-aminoantipirina, formando um complexo azul, que pode ser quantificado (HDL-C IMUNO, 2010).

O valor de LDL-C foi estimado pela fórmula de Friedewald (LDL-C = Colesterol Total – HDL-C – (Triglicerídeos/5)), para as amostras que tiverem resultados de triglicerídeos < 400mg/dL (FRIEDEWALD et al., 1972).

Para a dosagem de triglicerídeos, o kit empregado foi o "Triglicerídeo GPO-PAP Kovalent®". A determinação é realizada através do teste colorimétrico enzimático, utilizando glicerol-3-fosfato-oxidase. Após o rompimento dos triacilgliceróis através da lipoproteína lipase, ocorre uma série de reações que levam à produção de quinonimina (Reação de Trinder), composto colorido o qual é medido (TRIGLICERÍDEOS GPO-PAP, 2010).

4.3.2 Glicemia De Jejum

A glicemia de jejum foi dosada através do kit "Glicose GOD-PAP Kovalent®". Neste kit, um sistema enzimático utilizando glicose oxidase e peroxidase, gera o composto colorido quinonimina, proporcional à concentração de glicose na amostra. O valor obtido para amostra em 500nm é comparado ao valor encontrado para o padrão ou calibrador (GLICOSE GOD-PAP, 2010).

4.3.3 Aspartato aminotransferase (AST)

A Aspartato aminotransferase foi dosada pela metodologia cinética pelo kit "AST/GOT liquiform" da marca Labtest. A AST catalisa a transferência de grupos amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e oxalacetato. Este é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD.A conseqüente redução da absorbância em 340 ou 365 nm, monitorizada espectrofotometricamente, é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra (AST/GOT LIQUIFORM, 2010).

4.3.4 Alanina aminotransferase (ALT)

A alanina aminotransferase foi dosada pela metodologia cinética pelo kit "ALT/GTP liquiform" da marca Labtest. A TGP catalisa a transferência de grupos amina da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e piruvato. Este é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD. A consequente redução da absorbância em 340 ou 365 nm, monitorizada espectrofotometricamente, é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra (ALT/GTP LIQUIFORM, 2010).

4.3.5 Creatinina

A creatinina foi dosada pelo método colorimétrico (Picrato alcalino – Jaffé) utilizando o kit "Creatinina Labtest". A creatinina e outros componentes do soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino, formando um complexo de cor vermelha que é medico fotometricamente. A adição de um acidificante abaixa o pH para 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogênios, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina (CREATININA, 2008).

4.3.6 Ureia

A ureia foi dosada pelo método enzimático UV utilizando o kit "Ureia UV Liquiform Labtest". A ureia é hidrolisada pela urease, gerando amônia e dióxido de carbono. A amônia reage com o 2 cetoglutarato e NADH em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH), ocorrendo oxidação da NADH a NAD. A consequente redução da absorbância, medida em 340 ou 365 nm, é proporcional à concentração de ureia na amostra (UREIA UV LIQUIFORM, 2010).

4.3.7 Colinesterase

A colinesterase foi dosada através do método cinético colorimétrico pelo reagente "Colinesterase-PP Gold Analisa". Neste método a colinesterase hidrolisa a butirilcolina liberando tiocolina e butirato. A atividade catalítica na amostra e diretamente proporcional ao decréscimo da absorbância medida em 405 nm quando o ferricianeto (amarelo) é reduzido para ferrocianeto (incolor) pela ação da tiocolina (COLINESTERASE-PP, 2012).

4.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)

A CAT do soro foi mensurada através do método baseado no 2,2"–azinobis (3–etilbenzotiazolina–6–ácido sulfônico (ABTS). Neste método, o radical monocátion pré-formado de ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) é gerado pela oxidação com persulfato de potássio. Para o estudo das amostras, a solução estoque de $ABTS^{\bullet+}$ foi diluída com água deionizada até obter-se uma absorbância próxima de 0,70 em 734nm. Em seguida, a amostra foi adicionada ao ABTS oxidado e a absorbância foi medida novamente. Antioxidantes presentes na amostra capturam o radical cátion em um grau proporcional as suas concentrações (RE et al, 1999). O resultado foi expresso como porcentagem de radical capturado, comparando os resultados com um controle sem soro. Todas as amostras foram mensuradas em triplicata.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do programa SPSS (SPSS™ version 18 for Windows, SPSS do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Os dados das pacientes foram apresentados como intervalo de confiança da média, média e desvio padrão para as variáveis continuas e como número e porcentagens para variáveis categóricas. Após a verificação da normalidade dos dados, as possíveis diferenças entre os grupos foram encontradas utilizando o teste de Kruskal-Wallis para as variáveis ordinais e análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Bonferroni para as variáveis contínuas. Para as correlações foi utilizado o teste de Speermann, e para as variáveis nominais utilizou-se o teste exato de Fisher. Em todos os testes, o nível de significância foi considerado como $p<0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os voluntários da pesquisa que atenderam os critérios de inclusão e exclusão somaram 79 indivíduos, divididos em três grupos: 40 expostos diretamente aos praguicidas (EDP), 19 expostos indiretamente aos praguicidas (EIP) e 20 sem qualquer contato com pesticidas, sendo este último considerado grupo controle.

Os indivíduos expostos diretamente aos praguicidas são aqueles que manipulam estes compostos químicos ocupacionalmente, tendo como média 20,5 anos de contato com os praguicidas. Este grupo apresentou uma idade média de 44,8 anos, assim foram recrutados indivíduos para o grupo de EIP e controle com idades equivalentes, mantendo a mesma proporção de gênero (Tabela 1).

A principal classe de agrotóxicos utilizada pelo grupo EDP foi dos inseticidas organofosforados, sendo citada por 100% do grupo EDP. Outros pesticidas citados pelos voluntários foram os piretróides e os herbicidas da classe dos glifosatos (Tabela 2).

Tabela 1 – Características dos grupos estudados (Média ± desvio padrão).

Parâmetro	C (n=20)	EIP (n=19)	EDP(n=40)
Idade (anos)	44,8±18,1[a]	38,8±14,4[a]	43,2±12,1[a]
Tempo de exposição ocupacional aos praguicidas (anos)	0	0	20,5

Horizontal: Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ($p<0,05$, ANOVA com pós-teste de Bonferroni) C= controle, EIP= exposição indireta aos praguicidas EDP= exposição direta aos pragucidas.

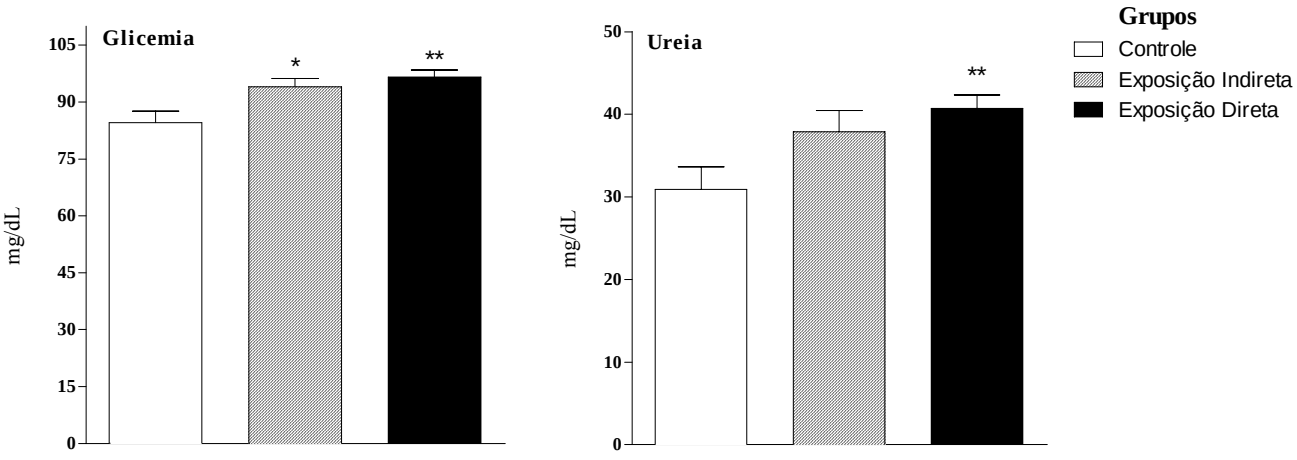
Tabela 2 – Principais classes de agrotóxicos citados pelos entrevistados expostos ocupacionalmente aos praguicidas.

Classe do pesticida	Numero de indivíduos (%)
Organofosforados	40 (100)
Piretróides	17 (42,5)
Glifosatos	13 (32,5)

Organofosforados são substâncias altamente tóxicas que ainda são usados na agricultura e em domicilio para jardinagem no mundo todo. A alta toxicidade destes pesticidas resultou em inúmeras intoxicações no passado (NAGAMI et al, 2005; SRIVASTAVA et al, 2005).

Assim como neste estudo, Recena et al (2006) encontraram a classe dos organofosforados como mais utilizada na agricultura (>90%) e o glifosato como o herbicida mais citado (76,4%), no estado do Mato Grosso do Sul.

Foram avaliados parâmetros bioquímicos para os 3 grupos (Tabela 3). Pode-se observar que entre os grupos EDP e EIP a glicemia estava aumentada em relação ao grupo controle ($p<0,05$), embora sem apresentar valores compatíveis com um diagnóstico de diabetes. Outro parâmetro que obteve valores maiores no grupo EDP foi ureia (Figura 1).



* Diferença estatística significativa em relação ao controle.*p<0,05, **p<0,01. ANOVA pós-teste Bonferroni.

Figura 1: Parâmetros laboratoriais, glicemia e ureia, para os grupos estudados com média e erro padrão da média.

Estes resultados concordam com aqueles encontrados por outros pesquisadores. Testes realizados com agricultores expostos aos organofosforados e comparados a grupo controle demonstraram aumento da glicose sanguínea, de ureia e colesterol. Assim concluíram que a exposição aos organofosforados está inclinada para diabetes (MALEKIRAD et al, 2013). Outro estudo sugere que a exposição crônica a organofosforados de agricultores não diabéticos pode induzir resistência a insulina (RAAFAT et al, 2012). Ainda, em outro estudo, ratos expostos a uma mistura de pesticidas apresentaram alterações no metabolismo da glicose (MERHIA et al, 2010).

O bioindicador mais indicado para avaliar a exposição aos praguicidas é a colinesterase (BRASIL, 1978). Esta enzima se mostrou elevada no grupo EDP em comparação com o controle (Tabela 3). Apesar de se mostrar estatisticamente mais elevada no Grupo EDP, a maioria dos resultados não excederam os valores de referencia (5320 a 12920 UI/L) (Figura 2).

Tabela 3 – Média ± desvio padrão (intervalo de confiança) das análises bioquímicas para os grupos.

Parâmetros laboratoriais	C (n=20)	EIP (n=19)	EDP(n=40)
Glicose (mg/dL)	84,5±13,9[a] (78,0 - 91,0)	94,0±9,4[b] (89,5 - 98,6)	96,6±11,6[b] (92,1 - 100,0)
HDL-colesterol (mg/dL)	60,0±19,8[a] (50,8 - 69,3)	60,3±13,6[a] (53,8 - 66,9)	55,8±13,3[a] (51,5 - 60,1)
LDL-colesterol (mg/dL)	102,0±38,9[a] (83,8-120,2)	91,3±32,8[a] (75,4-107,1)	106,7±32,7[a] (96,2-117,2)
Colesterol total (mg/dL)	180,9±36,6[a] (163,8 - 198,0)	170,8±35,3[a] (153,8 - 187,8)	179,7±36,3[a] (168,1 - 191,4)
Triglicérides (mg/dL)	94,6±41,2[a] (75,4 - 113,9)	95,8±48,4[a] (72,5-119,2)	86,2±68,9[a] (64,2 - 108,2)
Uréia (mg/dL)	30,9±12,3[a] (25,2-36,6)	37,9±11,2[ab] (32,5-43,3)	40,7±10,6[b] (37,3-44,0)
Creatinina (mg/dL)	1,0±0,2[a] (0,9-1,1)	1,0±0,1[a] (0,9-1,0)	1,0±0,2[a] (0,9-1,0)
TGO (UI/L)	21,8±4,7[a] (19,6-24,0)	19,0±7,6[a] (15,3-22,7)	22,9± 12,4[a] (19,0 -26,9)
TGP (UI/L)	11,2±4,0[a] (9,3-13,1)	19,2±11,1[a] (13,8-24,5)	24,3± 26,4[a] (15,9 – 32,8)
Colinesterase (UI/L)	7764,0±1782,5 [a] (6929,8 – 8598,2)	8247,9±1984,6[ab] (7291,4-9204,4)	9139,3± 2011,3[b] (8496,1 – 9782,5)
Alfa-1-glicoproteína-ácida (mg/dL)	58,80±45,03[a] (37,72-79,88)	168,84±25,02[b] (156,78-180,90)	173,83±20,38[b] (167,31-180,34)
ABTS (%)	56,84±6,74[a] (53,68-59,99)	49,63±4,92[b] (47,23-52,00)	49,05±4,44[b] (47,63-50,47)
Mieloperoxidase (ng/mL)	104,92±56,43[a] (78,51-131,33)	211,53±154,40[b] (137,11-285,94)	214,83±81,69[b] (188,70-240,95)
PCR-us (mg/dL)	0,24±0,22[A] (0,14 – 0,34)	0,38±0,69[B] (0,04 – 0,71)	0,16±0,26[AB] (0,07 – 0,24)

Horizontal: Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ($p<0,05$, ANOVA com pós-teste de Bonferroni). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ($p<0,05$, Kruskal Wallis).

Apesar de não se alterar em relação aos valores referenciais, o aumento da colinesterase observado para o grupo EDP pode estar relacionado à ocorrência de resposta inflamatória aumentada nestes indivíduos, pois é sabido que o aumento da capacidade sérica de hidrolisar a acetilcolina pode acentuar a resposta inflamatória por neutralizar a ação anti-inflamatória colinérgica. Esta ação pode ser mitigada pela acetilcolinesterase e a

butirilcolinesterase, esta última a mais importante enzima circulatória capaz de hidrolisar a acetilcolina (ASSAYAGE et al, 2010). Acetilcolinesterase e butirilcolinesterase antagonizam a sinalização vagal a em nível de macrófagos (BOROVIKOVA et al, 2000), e promovem resposta inflamatória sistêmica.

A hidrolise da acetilcolina é significativamente maior nos pacientes infartados que em pessoas normais (ASSAYAGE et al, 2010). Estudos demonstram uma relação entre a resposta inflamatória e a sinalização colinérgica. A sinalização colinérgica tem papel anti-inflamatório por inibir a síntese de citocinas e sua liberação através da ativação do receptor para acetilcolina (BOROVIKOVA et al, 2000; OFEK et al, 2007; WANG et al, 2003).

No que diz respeito aos parâmetros inflamatórios, a mieloperoxidase e a alfa-1 glicoptroteína ácida, se mostraram elevadas nos grupos expostos com relação ao grupo controle (Figura 2).

A enzima leucocitária MPO é uma molécula pró-inflamatória implicada na promoção e propagação da aterosclerose. Ainda, quando secretada por leucócitos ativados na inflamação, MPO converte LDL-c em sua forma aterogênica (PODREZ et al, 1999), gera várias espécies oxidantes (KLEBANOFF, 1980), e reduz a disponibilidade oxido nítrico, contribuindo para a disfunção endotelial (EISERICH et al, 2002; VITA et al, 2004).

O estresse oxidativo e a inflamação tem importante papel na patogênese e desestabilização da doença arterial coronariana, principalmente com a síndrome coronariana aguda. O infiltrado de macrófagos e neutrófilos participa da transformação da placa de estável para instável, evidenciado por achados de grande quantidade de MPO nas placas com ruptura (LORIA et al, 2008).

A doença arterial periférica é outra grande manifestação da aterosclerose associada a inflamação, e é um alto risco para eventos isquêmicos fatais e não fatais. A mieloperoxidase tem um impacto forte sobre o prognóstico de eventos cardiovasculares em pacientes com doença arterial periférica (BREVETTI et al, 2008).

Estudo realizado por Brevetti e cols (2008) sugere que a MPO é melhor indicador que a PCR em indivíduos sintomáticos de doença arterial periférica. Assim, sugere que a medida da MPO poderia ser utilizada como indicador de complicações futuras naqueles indivíduos com diagnóstico de doença arterial periférica, para seleção para terapia mais específica e agressiva.

Muitos estudos foram desenvolvidos para determinar os níveis normais de MPO. A MPO foi considerada variável independente preditora de infarto do miocárdio a longo prazo,

com valor de corte para maior risco de infarto em até 24 meses MPO ≥ 20,34 ng/mL (CAVUSOGLU et al, 2006). Hoy et al (2001) pesquisaram os níveis de MPO em indivíduos saudáveis, e encontrou 46,3 ng/mL.

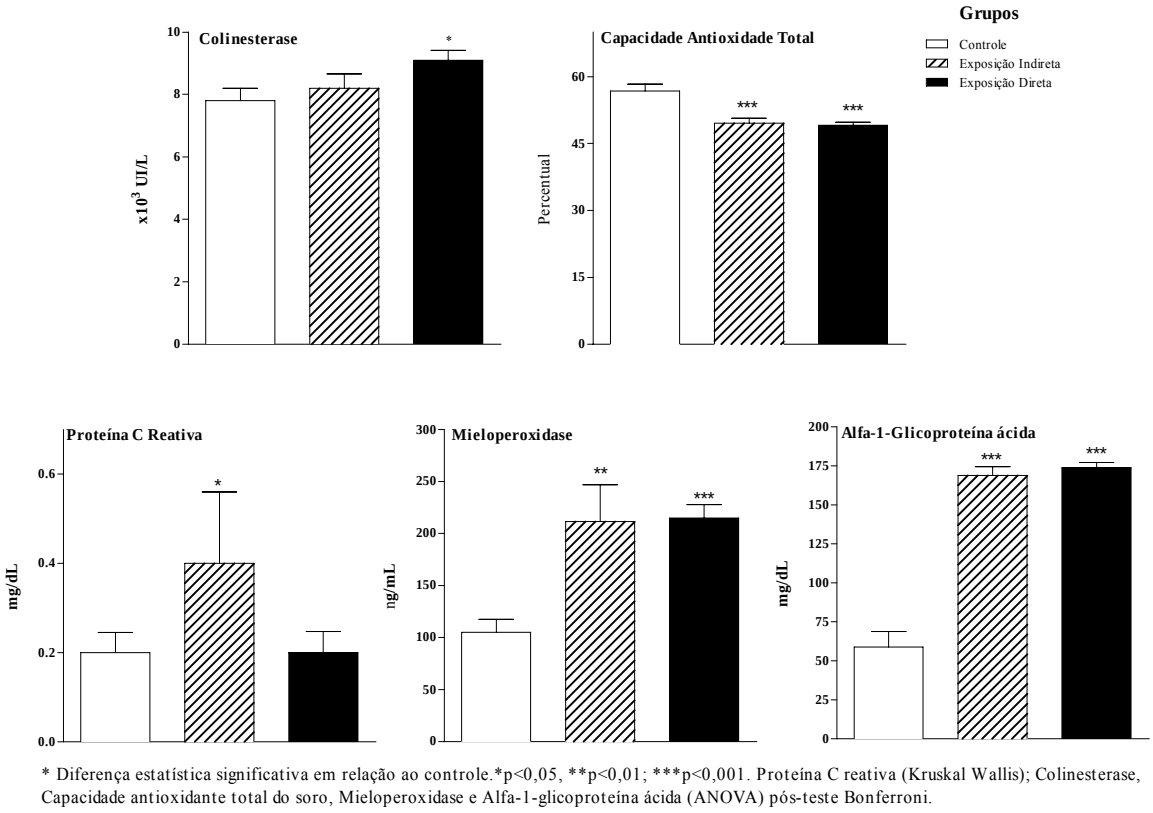


Figura 2: Média e Erro padrão da média para Colinesterase, Capacidade antioxidante total, Proteína C-reativa, Mieloperoxidase e Alfa -1-glicoproteína ácida.

Em contraponto, o *cutoff* para MPO foi considerado 350ng/mL (BALDUS et al, 2003). Neste estudo nenhum individuo do grupo controle apresentou níveis de MPO superiores a 350 ng/mL, enquanto 20% do grupo EIP e 20% do grupo EDP apresentaram níveis de MPO acima do ponto de *cutoff*.

No grupo EDP, a alfa-1-glicoproteína ácida acompanhou o aumento da MPO, sendo observada uma correlação direta entre estas duas variáveis (p=0,028). São dois marcadores inflamatórios, caracterizando uma atividade inflamatória presente nos indivíduos expostos a praguicidas.

O aumento da alfa-1-glicoproteína ácida também se correlacionou com o aumento da atividade da colinesterase (EIP – p=0,012) e da proteína-C-reativa (EDP – p=0,002), contudo este último marcador não apresentou diferença significativa entre os grupos, mas continua

sendo dado importante, pois apresentou correlação positiva com outros marcadores inflamatórios.

Elevações da PCR, mesmo dentro dos valores de referência, podem antecipar doenças, como problemas cardiovasculares (RIZZO et al, 2008) e diabetes (ONAT et al, 2008). A PCR é um marcador sensível de inflamação que desempenha papel importante no desenvolvimento e progressão da aterosclerose (ABDELLAOUI, AL-KHAFFAF, 2007).

Estudo realizado com agricultores encontrou valores de PCR variaram de 0,09 a 9,94 mg/L com mediana de 2,23 mg/L (FERNANDES et al, 2009). Valores semelhantes aos encontrados em nosso estudo, indicando proximidade ao valor de corte para aumento do risco de doença cardiovascular que é de 3 mg/L.

A PCR desempenha um papel importante nos diferentes estágios da aterosclerose (VENUGOPAL et al, 2005). Os efeitos pró-inflamatórios podem ser explicados pelo fato da PCR causar aumento da expressão de moléculas de adesão celular no endotélio (PASCERI et al, 2000), de proteína quimioatraente de monócito-1 (PASCERI et al, 2001), inibidor de ativação do plasminogênio-1 (DEVARAJ et al, 2003) e diminuição da produção de óxido nítrico (VERMA et al, 2002) e prostaciclina (VENUGOPAL et al, 2003). Além disso, a PCR ativa o sistema do complemento (WOLBINK et al, 1996) e contribui para a formação das células gordurosas nas lesões ateroscleróticas devido à capacidade de agregar moléculas de LDL-c (FU, BORENSZTAJN, 2002).

A capacidade antioxidante total, verificada pelo teste do ABTS no soro, se mostrou reduzido nos grupos expostos com relação ao grupo controle (Figura 2). Também foi avaliada sua correlação com os marcadores inflamatórios, tendo correlação indireta com a alfa-1-glicoproteína ácida. Este dado suporta a hipótese de instalação do estresse oxidativo na exposição aos praguicidas. Os organofosforados induzem estresse oxidativo em células neuronais, o que resulta na transcrição do NFκB e ativação da caspase-3, que estão envolvidos com a morte celular (JIA, MISRA, 2007).

Estudos com indivíduos expostos cronicamente a uma mistura de pesticidas mostraram aumento na atividade de enzimas antioxidantes e da peroxidação lipídica nos eritrócitos, mesmo sem diminuição dos níveis da acetilcolinesterase (HERNANDEZ et al, 2012). Nos estudos realizados por Selmi e cols. (2012) observou-se diminuição da atividade da catalase e superóxido dismutase, enquanto Sharma et al (2013) encontraram aumento destas enzimas, além de diminuição da glutationa reduzida, e aumentos do glutationa transferase, e glutationa peroxidase, sugerindo que estas enzimas são alvos de pesticidas.

Existem evidências de que a exposição aos organofosforados altera parâmetros hematológicos, como a concentração de hemoglobina no eritrócito, e o hematócrito, causando hemoconcentração. Estes efeitos podem ser uma resposta para garantir a oxigenação frente a um dano pulmonar induzido por exposição subcrônica. (SELMI, EL-FAZAA, GHARBI, 2012)

A tabela 4 apresenta os dados referentes aos parâmetros hematológicos dos três grupos estudados. Os eritrócitos estão aumentados nos indivíduos com exposição direta de forma significante se comparado com o controle e exposição indireta, assim como a concentração de hemoglobina e o hematócrito. Os leucócitos apresentaram contagem maior na exposição indireta se comparado com controle e exposição direta.

Tabela 4 – Média ± desvio padrão (intervalo de confiança) dos parâmetros hematológicos dos grupos

Parâmetros hematológicos	**C (n=20)**	**EI (n=18)**	**ED(n=55)**
VHS (mm)	10,9±7,7[a] (7,4 – 14,5)	11,8±12,1[a] (5,9 – 17,6)	6,5±7,0[a] (4,3 – 8,7)
Eritrócitos (mi/mL)	4,8±0,4[a] (4,6 – 4,9)	4,9±0,4[a] (4,7 – 5,1)	5,3±0,5[b] (5,1 – 5,4)
Hemoglobina (g/dL)	14,0±1,2[a] (13,4-14,5)	14,3±1,4[a] (13,6-15,0)	15,3±1,2[b] (14,9-15,7)
Hematócrito (%)	41,5±3,5[a] (39,8 – 43,1)	43,0±3,9[a] (41,1 – 44,9)	46,8±4,2[b] (45,4 – 48,1)
Volume corpuscular médio (fL)	87,3±4,3[a] (85,3 – 89,3)	87,8±3,3[a] (86,2-89,4)	88,6±3,4[a] (87,5 – 89,7)
Hemoglobina corpuscular média (pg)	29,4±1,5[a] (28,7-30,1)	29,1±1,1[a] (28,6-29,7)	29,0±0,1[a] (28,7-29,4)
Concentração de hemoglobina corpuscular média (g/dL)	33,6±0,8[a] (33,2-34,0)	33,2±0,9[a] (32,8-33,6)	32,1±4,7[a] (30,5-33,6)
Plaquetas (mil/mL)	213,0±47,2[a] (190,9-235,1)	249,2±44,5[b] (227,7-270,6)	227,5± 44,0[ab] (213,4 -241,5)
Leucócitos (mil/mL)	5,6±1,3[a] (5,0-6,3)	7,1±2,5[b] (5,9-8,3)	5,3± 1,4[a] (4,9 – 5,7)

Horizontal: Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos ($p<0,05$, ANOVA com pós-teste de Bonferroni).

Células dendríticas são apresentadoras de antígenos e tem papel importante da resposta imune (DE HEER et al, 2005), Experimentos in vivo relatam que os organofosforados afetam o sistema imunológico (BLAKLEY et al, 1999, HANDY et al,

2002) mas poucos estudos investigam esta relação em humanos. Nakadai et al (2006) observou a ativação da caspase-3 levando a apoptose de monócitos, Crow et al (2008) mostrou retenção intracelular de colesterol ésteres em macrófagos e monócitos. Estudos epidemiológicos demonstraram anormalidades na função imune em humanos expostos cronicamente a organofosforados. (THRASHER et al, 1993).

Organofosforados induzem modificações na morfologia de células imunocompetentes, inibem mecanismos anti-inflamatorios e influenciam cascatas de sinalização envolvidas em prevenir a apoptose. Os efeitos parecem ser independentes da inibição da acetilcolinesterase (SCHÄFER et al, 2013).

Em intoxicações agudas os organofosforados causam inibição da colinesterase com excesso de acetilcolina, resultando em crise colinérgica que é caracterizada por miose, sudorese, salivação, secreção brônquica, disfunção muscular, depressão respiratória central e periférica (EATON et al, 2008; HOFFMANN, PAPENDORF, 2006).

Como observado, os pesticidas estão envolvidos na produção de radicais livres e não promoção do estresse oxidativo, concordando com os resultados obtidos na avaliação dos parâmetros anti-inflamatórios e capacidade antioxidante total do soro. Visto que estes parâmetros são fatores de risco para as doenças arteriais coronarianas, também foi detectado maior prevalência de hipertensão arterial sistêmica nos indivíduos expostos diretamente aos praguicidas. Outros indicadores de exposição crônica aos praguicidas que se mostraram estatisticamente importantes no grupo exposto foram gastrite e depressão (figura 3).

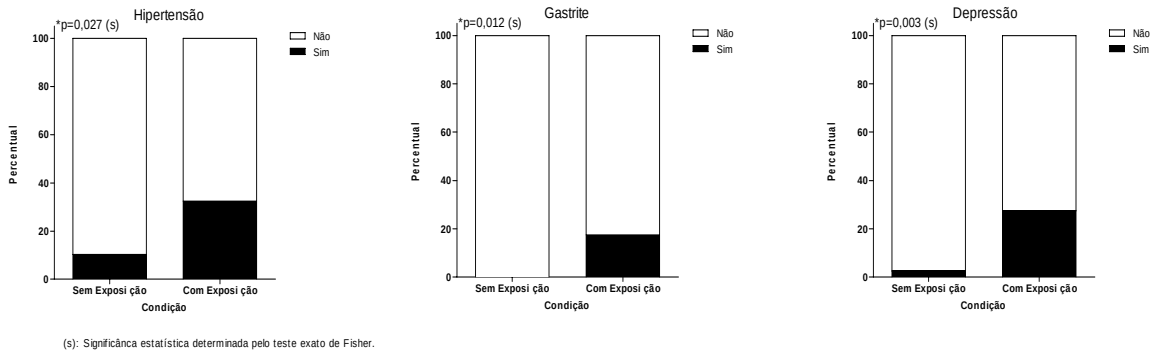


Figura 3: Prevalência de sinais relacionados à exposição crônica aos praguicidas nos grupos com e sem exposição.

Achados que concordam com o estudo desenvolvido por Malekirad et al, 2013, onde as taxas de ansiedade, insônia e depressão também forma maiores nos agricultores que nos controles. Os trabalhadores apresentaram salivação, fadiga, cefaleia, sudorese, dor abdominal,

náusea, dispneia e rinorreia. Assim concluíram que a exposição aos organofosforados esta inclinada para desordens neurológicas (MALEKIRAD et al, 2013).

Em intoxicações agudas, os organofosforados causam inibição da colinesterase com excesso de acetilcolina, resultando em crise colinérgica que é caracterizada por miose, sudorese, salivação, secreção brônquica, disfunção muscular, depressão respiratória central e periférica (EATON et al, 2008; HOFFMANN, PAPENDORF, 2006).

Alguns sinais e sintomas relacionados com a exposição aguda a praguicidas foram encontrados com maior significância naqueles em exposição direta aos praguicidas. Foram parâmetros estatisticamente importantes a cefaleia, tremores, xerostomia, sialorreia, sudorese (Figura 4).

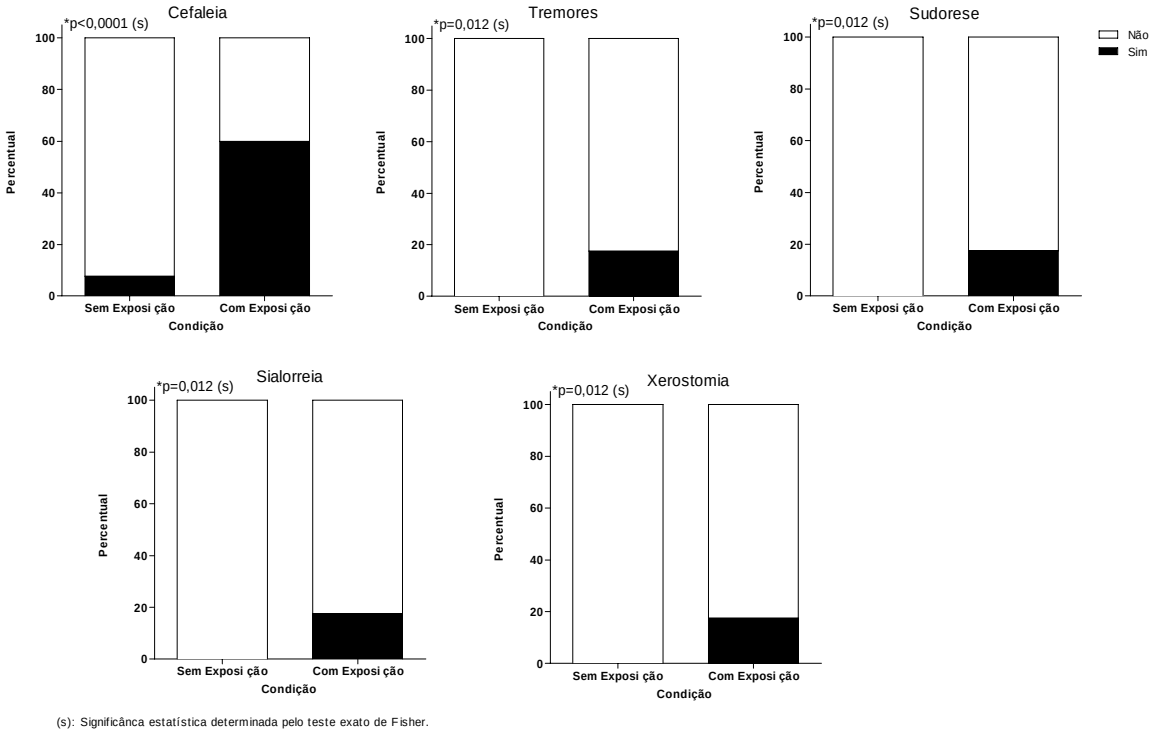


Figura 4: Prevalência de sinais relacionados à exposição aguda aos praguicidas nos grupos com e sem exposição.

Estes achados indicam intoxicação por pesticidas especialmente da classe dos organofosforados, pois estes diminuem a atividade da colinesterase, aumentando a disponibilidade de acetilcolina na fenda sináptica. Em concordância com estes dados, Recena et al (2006) detectaram em seu estudo que o sintoma mais prevalente nas exposições agudas aos pesticidas foi a cefaleia (51,7%).

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho evidencia a exposição crônica aos praguicidas e as consequentes manifestações em fumicultores e moradores da cidade de Serranópolis do Iguaçu-PR destacando a ocorrência tanto de exposição ocupacional como não ocupacional, sendo um indicativo de possíveis contaminações ambientais.

Observa-se também que a exposição cronica aos diferentes praguicidas de que trata esta dissertação promove diferentes alterações laboratoriais encontradas nas análises sorológicas e hematológicas realizadas e que, portanto, podem ser utilizadas no monitoramento de tais exposições.

Além disso, a análise dos dados apurados por este estudo nos permitem concluir que os níveis séricos da mieloperoxidase encontram-se elevados em indivíduos expostos cronicamente a praguicidas, mantendo relação com outros marcadores inflamatórios, como a alfa-1-glicoproteína ácida e a proteína C reativa. Com estes resultados sugerimos que a exposição crônica aos pesticidas pode levar a um aumento adaptativo da atividade da colinesterase resultando em diminuição da ação anti-inflamatória da acetilcolina, com aumento dos níveis de mieloperoxidase e outros marcadores da inflamação.

Outro parâmetro que se mostrou importante foi a capacidade antioxidante total, medida no soro, que apresentou-se diminuída nos casos de exposição aos praguicidas, o que pode resultar em estresse oxidativo e, consequentemente, uma variedade de manifestações clínicas. Dentre estas podemos evidenciar um aumento na incidência de hipertensão arterial sistêmica, gastrite e depressão.

Desta forma, é imperativo que sejam tomadas medidas de controle e reversão desta exposição a praguicidas que ocorre cronicamente no município de Serranópolis do Iguaçu em diferentes localidades do Brasil, sendo que as análises laboratoriais por meio de biomarcadores correntes e novos podem contribuir bastante na avaliação da ocorrência desta exposição e no acompanhamento dos indivíduos expostos a praguicidas e avaliação de riscos à saúde dos mesmos.

REFERÊNCIAS

ABDELLAOUI, A.; AL-KHAFFAF, H. C-reactive protein (CRP) as a marker in peripheral vascular disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, v. 34, p. 18-22, 2007.

ABDOLLAHI, M.; RANJBAR, A.; SHADNIA, S.; NIKFAR, S.; REZAIE, A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*, v. 10, p. 141 – 147, 2004.

AGP – ALFA 1-GLICOPROTEÍNA ÁCIDA MONO. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de alfa 1-glicoproteína ácida em soro ou plasma.

AGRAWAL, A.; SHARMA, B. Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *Int J Biol Med Res*, v. 1, p. 90 – 104, 2010.

ALT/GTP LIQUIFORM. Labtest. Lagoa Santa, MG. Labtest Diagnóstica S.A, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de transaminase glutâmico pirúvica em soro ou plasma.

ARNHOLD, J.; FLEMMIG, J. Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity. *Arch Biochem Biophys*, v.500, p.92–106, 2010.

ASSAYAG, E. B.; SHENHAR-TSARFATY, S.; OFEK, K.; SOREQ, L.; BOVA, I.; SHOPIN, L.; BERG, R. M. G.; BERLINER, S.; SHAPIRA, I.; BORNSTEIN, N. M.; SOREQ, H. Serum Cholinesterase Activities Distinguish between Stroke Patients and Controls and Predict 12-Month Mortality. *Mol Med*, v. 16, p. 278-286, 2010.

AST/GOT LIQUIFORM. Labtest. Lagoa Santa, MG. Labtest Diagnóstica S.A, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de transaminase glutâmico oxalacética em soro ou plasma.

AYOOLA, S.O. Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *Afr. J. Agric. Res*, v. 3, p. 825–834, 2008.

BALDUS, S.; HEESCHEN, C.; MEINERTZ, T.; ZEIHER, A. M.; EISERICH, J. P.; MÜNZEL, T.; SIMOONS, M. L.; HAMM, C. W. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*, v. 108, p.1440–5, 2003.

BLAKLEY, B. R.; YOLE, M. J.; BROUSSEAU, P.; BOERMANS, H.; FOURNIER, M. Effect of chlorpyrifos on immune function in rats. *Vet Hum Toxicol*, v 41, p. 140–144, 1999.

BORATO, D. C. K.; PARABOCZ, G. C.; RIBAS, S. R. W.; KALVA-FILHO, C. A.; BORBA, L. M.; ITO, C. A. S.; BAIL, L.; SANTOS, F. A.; VELLOSA, J. C. R. Changes of metabolic and inflammatory markers in HIV infection: glucose, lipids, serum Hs-CRP and myeloperoxidase. *Metabolism*, v**.** 61, p. 1353-1360, 2012.

BOROVIKOVA, L. V.; IVANOVA, S.; ZHANG, M.; YANG, H.; BOTCHKINA, G. I.; WATKINS, L. R.; WANG, H.; ABUMRAD, N.; EATON, J. W.; TRACEY, K. J. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, v. 405, p. 458–62, 2000.

BRASIL. Normas Regulamentadoras de Segurança e Saúde no Trabalho 7 (NR 7). **Portaria GM n.º 3.214, de 08 de junho de 1978**. Disponível em: http://mte.gov.br/empregador/ segsau/Legislação/Normas. Acesso em: 22 nov. 2012.

BREVETTI, G.; SCHIANO, V.; LAURENZANO, E.; GIUGLIANO, G.; PETRETTA, M.; SCOPACASA, F.; CHIARIELLO, M. Myeloperoxidase, but not C-reactive protein, predicts cardiovascular risk in peripheral arterial disease. *European Heart Journal*, v. 29, p. 224–230, 2008.

BRITO, P. F.; GOMIDE, M.; CAMARA, V. M. Agrotóxicos e saúde: realidade e desafios para mudança de práticas na agricultura. *Physis*, v.19, p. 207-225, 2008.

CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **ABRASCO**. 1ª Parte. 98 p., 2012.

CAVUSOGLU, E.; RUWENDE, C.; ENG, C.; CHOPRA, V.; YANAMADALA, S.; CLARK, L. T.; PINSKY, D. J.; MARMUR, J. D. Usefulness of Baseline Plasma Myeloperoxidase Levels as an Independent Predictor of Myocardial Infarction at Two Years in Patients Presenting With Acute Coronary Syndrome. *The American Journal of Cardiology***.** p. 1364 – 1368, 2006.

CECCHI, A.; ROVEDATTI, M. G.; SABINO, G. MAGNARELLI, G. G. Environmental exposure to organophosphate pesticides: Assessment of endocrine disruption and hepatotoxicity in pregnant women. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 80, p. 280 – 287, 2012.

COLESTEROL CHOD-PAP. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de colesterol total em soro ou plasma.

COLINESTERASE-PP. Farmacêutico responsável: Ludmilla Parreira Campos. Belo Horizonte, MG: GoldAnalisa Diagnóstica LTDA, 2012. Bula de reagentes para determinação quantitativa de colinesterase em soro ou plasma.

COSTA, M. M.; SILVA, A. S.; PAIM, F. C.; FRANÇA, R.; DORNELLES, G. L.; THOMÉ, G. R.; SERRES, J. D. S.; SCHMATZ, R.; SPANEVELLO, R. M.; GONÇALVES, J. F.; SCHETINGER, M. R. C.; MAZZANTI, C. M. A.; LOPES, S. T. A.; MONTEIRO, S. G. Cholinesterase as inflamatory markers in a experimental infection by *Trypanosoma evansi* in rabbits. *Anais da academia brasileira e ciências*, v. 84, p. 1105 – 1113, 2012.

CREATININNA. Labtest. Lagoa Santa, MG. Labtest Diagnóstica S.A, 2008. Bula de reagentes para determinação quantitativa de creatinina em soro, plasma ou urina.

CROW, J. A.; MIDDLETON, B. L.; BORAZJANI, A.; HATFIELD, M. J.; POTTER, P. M.; ROSS, M. K. Inhibition of carboxylesterase 1 is associated with cholesteryl ester retention in human THP-1 monocyte/macrophages. *Biochim Biophys Acta*, v. 1781, p. 643–654, 2008.

DE HEER, H. J.; HAMMAD, H.; KOOL, M.; LAMBRECHT, B. N. Dendritic cell subsets andimmune regulation in the lung. *Semin Immunol*, v. 17, p. 295–303, 2005.

DEVARAJ, S.; XU, D. Y.; JIALAL, I. C-reactive protein increases plaminogen activator inihibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation*, v. 107, p. 398-404, 2003.

EATON, D. L.; DAROFF, R. B.; AUTRUP, H.; BRIDGES, J.; BUFFLER, P.; COSTA, L. G.; COYLE, J.; MCKHANN, G.; MOBLEY, W. C.; NADEL, L.; NEUBERT, D.; SCHULTE-HERMANN, R.; SPENCER, P. S., Review of the toxicology of chlorpyrifos with

an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Crit Rev Toxicol*, v. 38, p. 1–125, 2008.

EISERICH, J. P.; BALDUS, S.; BRENNAN, M. L.; MA, W.; ZHANG, C.; TOUSSON, A.; CASTRO, L.; LUSIS, A. J.; NAUSEEF, W. M.; WHITE, C. R.; FREEMAN, B. A. Myeloperoxidase, a leukocyte-derived vascular NO oxidase. *Science,* v. 296, p. 2391–2394, 2002.

ESPORCATTE, R.; REY, H. C. V.; RANGEL, F. O. D.; ROCHA, R. M.; FILHO, H. T. F. M; DOHMANN, H. F. R.; FILHO, F. M. A. Valor preditivo da mieloperoxidase na identificação de pacientes de alto risco admitidos por dor torácica aguda. *Arq. Bras. Cardiol,* v. 89, p. 377-384, 2007.

ETEMADI-ALEAGHA, A.; AKHGARI, M.; ABDOLLAHI, M. A brief review on oxidative stress and cardiac diseases. *Mid East Pharmac*, v. 10, p. 8 – 9, 2002.

FARIA, N. M. X.; FASSA, A. G.; FACCHINI, L. A. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, p. 25 – 38, 2007.

FDA - Food and agriculture organization of the united nations. **International code of conduct on the distribution and use of pesticides**. p.10-25, 2002.

FERNANDES, A. C.; GAZZINELLI, A.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. Associação entre medidas de adiposidade, variáveis demográficas e bioquímicas com os níveis séricos de proteína C-reativa em população rural. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 59, 2009.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVI, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin. Chem.*, v. 18, p. 499-502, 1972.

FU, T.; BORENSZTAJN, J. Macrophage uptake of low-density lipoprotein bound to aggregated C-reactive protein: possible mechanism of foam-cell formation in atherosclerotic lesions. *Biochem J*, v. 366, p. 195-201, 2002.

GANDLEY, R. E.; ROHLAND, J.; ZHOU, Y.; SHIBATA, E.; HARGER, G. F.; RAJAKUMAR, A.; KAGAN, V. E.; MARKOVIC, N.; HUBEL, C. A. Increased Myeloperoxidase in the Placenta and Circulation of Women With preeclampsia. *Hypertension Journal American Heart Association*, v. 52, p. 387-393, 2008.

GLICOSE GOD-PAP. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de glicose em soro ou plasma.

HANDY, R. D.; ABD-EL SAMEI, H. A.; BAYOMY, M. F.; MAHRAN, A. M.; ABDEEN, A. M.; EL-ELAIMY, E. A. Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology*, v. 172, p. 13–34, 2002.

HDL-C IMUNO. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de lipoproteína de alta densidade em soro ou plasma.

HERNANDES, A. F.; LACASANA, M.; GIL, F.; RODRIGUES-BARRANCO, M.; PLA, A.; LOPEA-GUARNIDO. Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environment interaction perspective. *Toxicology*, 2012.

HOFFMANN, U.; PAPENDORF, T. Organophosphate poisonings with parathion and dimethoate, *Intensive Care Med*, v. 32, p. 464–468, 2006.

HOY, A.; TREÂGOUEÈT, D.; LEININGER-MULLER, B.; POIRIER, O.; MAURICE, M.; SASS, C.; SIEST, G.; TIRET, L.; VISVIKIS, S. Serum myeloperoxidase concentration in a healthy population: biological variations, familial resemblance and new genetic polymorphisms. *European Journal of Human Genetics,*v. 9, p. 780 – 786, 2001.

HUNG, T. H.; CHEN, S. F.; LO, L. M.; LI, M. J.; YEH, Y. L.; HSIEH, T. T. Myeloperoxidase in the plasma and placenta of normal pregnant women and women with pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Placenta*, v. 33, p. 294–303, 2012.

JIA, Z.; MISRA, H. P. Reactive oxygen species in in vitro pesticide-induced neuronal cell (SH-SY5Y) cytotoxicity: Role of NFκB and caspase-3. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 42, p. 288–298, 2007.

JIANG, W.; MURASHKO, E. A.; DUBROVSKII, Y. A.; PODOLSKAYA, E. P.; BABAKOV, V. N.; MIKLER, J.; NACHON, F.; MASSON, P.; SCHOPFER, L. M.; LOCKRIDGE, O. MALDI-TOF mass spectrometry of titanium oxide enriched peptides for detection of aged organophosphorus adducts on human butyrylcholinesterase. *Analytical biochemistry*, 2013.

JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos?: Uma contribuição ao debate. *Ciência e saúde coletiva*, v.15, p. 277-288, 2010.

KEIFER, M.; GASPERINI, F.; ROBSON, M. Pesticides and other chemicals: minimizing worker exposures. *Journal of Agromedicine*, v. 15, p. 264 – 274, 2010.

KLEBANOFF, S. J. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med*, v. 93, p. 480–489, 1980.

KUBALA, L.; LU, G.; BALDUS, S.; BERGLUND, L.; EISERICH, J. P. Plasma levels of myeloperoxidase are not elevated in patients with stable coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta*, v. 394, p. 59-62, 2008.

LEWIS, S. M.; DACIE, J. V.; BAIN, B. J. Dacie and Lewis **Practical haematology**. 10ª ed. Londres: Churchill Livingstone, 2006. 722 p.

LOBBES**,** M. B. I.; KOOI M. E.; LUTGENS, E.; RUITERS, A. W.; LIMA PASSOS, V.; BRAAT, S. H. J. G.; ROUSCH, M.; TEN CATE, H.; VAN ENGELSHOVEN, J. M. A.; DAEMEN, M. J. A. P.; HEENEMAN, S. Leukocyte Counts, Myeloperoxidase, and Pregnancy-Associated Plasma Protein A as Biomarkers for Cardiovascular Disease: Towards a Multi-Biomarker Approach**.** *International Journal of Vascular Medicine*, p. 1-9, 2010.

LORIA, V.; DATO, I.; GRAZIANI, F.; BIASUCCI, L. Myeloperoxidase: A New Biomarker of Inflammation in Ischemic Heart Disease and Acute Coronary Syndromes. *Mediators of Inflammation*, 2008.

MALEKIRAD, A. A.; FAGHIH, M.; MIRABDOLLAHI, M.; KIANI, M.; FATHI, A.; ABDOLLAHI, M. Neurocognitive, mental health, and glucose disorders in farmers exposed to organophosphorus pesticides. *Arh Hig Rada Toksikol*, v. 64, p. 1-8, 2013.

MARETTO, G. X.; NASCIMENTO, C. P.; PASSAMANI, L. M.; SCHENBERG, L. C.; ANDRADE, T. U.; FIGUEIREDO, S. G.; MAUAD, H.; SAMPAIO, K. N. Acute exposure to the insecticide O,S-dimethyl phosphoramidothioate (methamidophos) teads to impairment of cardiovascular reflexes in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 80, p. 203 – 207, 2012.

MERHI, M.; DEMUR, C.; RACAUD-SULTAN, C.; BERTRAND, J.; CANLET, C.; ESTRADA, F. B.; GAMET-PAYRASTRE, L. Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice. *Toxicology*, v. 267, p. 80–90, 2010.

MIRANDA-CONTRERAS, L.; GOMEZ-PERES, R.; ROJAS, G. CRUZ, I.; BERRUETA, L.; SALMEN, S.; COLMENARES, M.; BARRETO, S.; BALZA,, A.; ZAVALA, L.; MORALES, Y.; MOLINA, Y.; VALERI, L.; CONTRERAS, C. A.; OSUMA, J. A. Occupacioonal exposure to organophosphate and carbamate pesticides affects sperm chromatiin integrity and reproductive hormone levels among Venezuelan farm workers. *Journal of occupational health*, 2013.

NAGAMI, H.; NISHIGAKI, Y.; MATSUSHIMA, S.; MATSUSHITA, T.; ASANUMA, S.; YAJIMA, N.; USUDA, M.; HIROSAWA, M. Hospital-based survey of pesticide poisoning in Japan. *Int J Occup Environ Health*, v.11, p. 180–184, 2005.

NAKADAI, A.; LI, Q.; KAWADA, T. Chlorpyrifos induces apoptosis in human monocyte cell line U937. *Toxicology*, v.224, p. 202–209, 2006.

NICHOLLS, S. J.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidase, modified lipoproteins, and atherogenesis. *J Lipid Res*, v. 50, p. 346 – 351, 2009.

OFEK, K.; KRABBE, K. S.; EVRON, T.; DEBECCO, M.; NIELSEN, A. R.; BRUNNSGAAD, H.; YIRMIYA, R.; SOREQ, H.; PEDERSEN, B. K. Cholinergic status modulations in human volunteers under acute inflammation. *J. Mol. Med*, v. 85, p. 1239–51, 2007.

ONAT, A.; CAN, G.; HERGENÇ, G. Serum C-reactive protein is an independent risk factor predicting cardiometabolic risk. *Metabolism*, v. 57, p. 207-14, 2008.

PASCERI, V.; CHENG, J.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. Modulation of Creactive protein–mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*, v. 103, p. 2531-4, 2001.

PASCERI, V.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, v. 102, p. 2165-8, 2000.

PCR ULTRASSENSÍVEL. Biomédica responsável: Ligia Monaro da Silva. Guarulhos, SP. DiaSys Diagnostic Systems, Importado e Distribuído por BioSys LTDA, 2008/9. Instruções de uso para determinação quantitativa de PCR de alta sensibilidade em soro fresco.

PICCIRILLO, L.J.; GONÇALVES, M.F.R.; CLEMENTE, E.L.S.; GOMES, M.B. Marcadores de Inflamação em Pacientes Com Diabetes Mellitus Tipo 1. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia,* v. 48, p. 253-260, 2004.

PODREZ, E. A; SCHMITT, D.; HOFF, H. F.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidasegenerated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. *J Clin Invest*, v. 103, p. 1547–1560, 1999.

POHANKA, M. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomed Pap Med Fac Uiv Palacky Olomouc Czech Repub,* v. 155, p. 219 – 230, 2011.

QUEIROZ, M. L. S.; FERNANDES, M. D.; VALADARES, M. C. Neutrophil function in workers exposed to organophosphate and carbamate insecticides. *International journal of immunopharmacology*, v. 21, p. 263 – 270, 1999.

RAAFAT, N.; ABASS, M. A.; SALEM, H. M. Malathion exposure and insulin resistance among a group of farmers in Al-Sharkia governorate. *Clinical Biochemistry*, v.45, p. 1591–1595, 2012.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, p. 1231–37, 1999.

RECENA, M. C. P.; CALDAS, E. D.; PIRES, D. X.; PONTES, E. R. J. C. Pesticides exposure in Culturama, Brazil—Knowledge, attitudes, and practices. *Environmental Research*, v.102, p. 230–236, 2006.

RIZZO, M.; CORRADO, E.; COPPOLA, G.; MURATORI, I.; NOVO, S. Prediction of cerebrovascular and cardiovascular events in patients with subclinical carotid atherosclerosis: the role of C-reactive protein. *J Investig Med*, v. 56, p. 32-40, 2008.

ROMAN, R.M.; WENDLAND, A.E.; POLANCZYK, C.A. Mieloperoxidase e doença arterial coronariana: da pesquisa à prática clínica. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v. 91, p. 12-19, 2008.

ROMERO, D.; RÍOS DE MOLINA, M.C.; JUÁREZ, A.B. Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of Chlorella kessleri. *Ecotoxicol. Environ. Saf*, v.74, p.741–747, 2011.

SCHÄFER, M.; KOPPE, F.; STENGER, B.; BROCHHAUSEN, C.; SCHMIDT, A.; STEINRITZ, D.; THIERMANN, H.; KIRKPATRICK, C. J.; POHL, C. Influence of organophosphate poisoning on human dendritic cells. *Chemico-Biological Interactions*, v. 206, p. 472–478, 2013.

SELMI, S.; EL-FAZAA, S.; GHARBI, N. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in plasma, erythrocyte and brain of rats'pups following lactational exposure to malathion. *Environmental toxicology and pharmacology*, v. 34, p. 753 – 760, 2012.

SHARMA, R. K.; UPADHYAY, G.; SIDDIQI, N. J.; SHARMA, B. Pesticides-induced biochemical alterations in occupational North Indian suburban population. *Human and experimental toxicology,* 2013.

SILVA, S. H.; MORESCO, R. N. Biomarcadores cardíacos na avaliação da síndrome coronariana aguda. *Scientia Médica*, v. 21, p. 132-142, 2011.

SINITOX (Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas). Casos, Óbitos e Letalidade de Intoxicação Humana por Agente e por Região. **Brasil**, 2010. Disponível em http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=379>. Acessado em 25/02/2013.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS. L. P.; MULLIN, L. S; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, v. 171, p. 3–59, 2002.

SRIVASTAVA, A.; PESHIN, S. S.; KALEEKAL, T.; GUPTA, S. K. An epidemiological study of poisoning cases reported to the National Poisons Information Centre, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi. *Hum Exp Toxicol*, v. 24, p. 279–285, 2005.

STAMP, L. K.; TURNER, R.; KHALILOVA, I. S.; ZHANG, M.; DRAKE, J.; FORBES, L. V.; KETTLE, A. J. Myeloperoxidase and oxidation of uric acid in gout: implications for the clinical consequences of hyperuricaemia. *Rheumatology Advance Access*, 2014. doi:10.1093/rheumatology/keu218

TANG, W.H.; WU, Y.; NICHOLLS, S. J.; HAZEN, S. L. Plasma myeloperoxidase predicts incident cardiovascular risks in stable patients undergoing medical management for coronary artery disease. *Clin Chem*, v. 57, p. 33 – 39, 2011.

THRASHER, J. D.; MADISON, R.; BROUGHTON, A. Immunologic abnormalities in humans exposed to chlorpyrifos: preliminary observations. *Arch Environ Health*, v. 48, p. 89–93, 1993.

TRIGLICERÍDEOS GPO-PAP. Farmacêutico responsável: Jorge A. Janoni. São Gonçalo, RJ: Kovalent do Brasil LTDA, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de triglicerídeos em soro ou plasma.

UREIA UV LIQUIFORM. Labtest. Lagoa Santa, MG. Labtest Diagnóstica S.A, 2010. Bula de reagentes para determinação quantitativa de ureia em soro, plasma ou urina.

VAN DER SHANS, M. J.; HUKST, A. G.; VAN DER RIET-VAN OEVEREN, D.; NOORT, D.; BENSCHOP, H. P.; DISHOVSKY. New tools in diagnosis and biomonitoring of ntoxications with organiphosphorothioates: Case studies with chlorpyrifos and diazinon. *Chemico-bioological interactions*, v. 203, p. 96 – 102, 2013.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 22, p. 2391-2399, 2006.

VENUGOPAL, S. K.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells. *Circulation*, v. 108, p. 1676-8, 2003.

VENUGOPAL, S. K.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Effect of C-reactive protein on vascular cells: evidence for a proinflammatory, proatherogenic role. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, v.14, p. 33-37, 2005.

VERMA, S.; WANG, C. H.; LI, S. H.; DUMONT, A. S.; FEDAK, P. W.; BADIWALA, M. V. A.; ET, A. L. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*, v. 106, p. 913-9, 2002.

VITA, J. A.; BRENNAN, M. L.; GOKCE, N.; MANN, S. A.; GOORMASTIC, M.; SHISHEHBOR, M. H.; PENN, M. S.; KEANEY, J. F. J.; HAZEN, S. L. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. *Circulation*, v. 110, p. 1134–1139, 2004.

VOLP, A.C.P.; ALFENAS, R.C.G.; COSTA, N.M.B.; MINIM, V.P.R.; STRINGUETA, P.C.; BRESSAN, J. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 52, p. 537 – 549, 2008.

WANG, H; YU, M; OCHANI, M.; AMELLA, C. A.; TANOVIC, M.; SUSARLA, S.; LI, J. H.; WANG, H.; YANG, H.; ULLOA, L.; AL-ABED, Y.; CZURA, C. J.; TRACEY, K. J. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature*, v. 421, p. 384–8, 2003.

WHO, World Health Organization. **Glyphosate**. Environ Health Criteria 159. WHO, Geneva. 1994.

WOLBINK, G. J.; BROUWER, M. C.; BUYSMANN, S.; BERGE, I. J.; HACK, C. E. CRP-mediated activation of complement in vivo: assessment by measuring circulating complement-C- reactive protein complexes. *J Immunol*, v. 157, p. 473-9, 1996.

ZHANG, R.; BRENNAN, M. L.; FU, X.; AVILES, R. J.; PEARCE, G. L.; PENN, M. S.; TOPOL, E. J.; SPRECHER, D. L.; HAZEN, S. L. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA*, v. 286, p. 2136 – 2142, 2001.

ANEXO A – Parecer COEP UEPG

PROJETO DE PESQUISA

Título: DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE (MPO; E.C. 1.11.1.7) EM INDIVÍDUOS EXPOSTOS A PRAGUICIDAS.

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 07117712.2.0000.0105

Pesquisador: JOSÉ CARLOS REBUGLIO VELLOSA

Instituição: Universidade Estadual de Ponta Grossa

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 109.879

Data da Relatoria: 27/09/2012

Apresentação do Projeto:

Praguicida é qualquer substância ou mistura de substâncias capazes de prevenir, controlar ou destruir uma praga, incluindo vetores de doenças humanas ou animais, plantas daninhas e animais que possam danificar ou interferir na produção, processamento, armazenamento, transporte ou comercialização de alimentos, produtos agrícolas, madeira, ração animal, ou substâncias utilizadas para controle de insetos, aracnídeos ou pragas em animais (FDA, 2002). Estudos demonstram que os praguicidas estão relacionados com a produção de espécies reativas do oxigênio, alterando o equilíbrio entre oxidantes, pró-oxidantes e antioxidantes; promovendo a peroxidação lipídica, diminuindo os níveis celulares de antioxidantes e estabelecendo o estresse oxidativo. Os impactos causados por este incluem dano tecidual e apoptose, estando envolvido no desenvolvimento de varias patologias (Agrawal e Sharma, 2010; Etemadi-Aleagha, Akhgari, Abdollahi, 2002). O estresse oxidativo vem sendo relacionado com inúmeras patologias, incluindo as doenças inflamatória crônicas, como artrite reumatóide, vasculite, hepatite, pancreatite, aterosclerose, entre outros distúrbios inflamatórios (Abdollahi M et al, 2006). Assim, estudamos a mieloperoxidase, uma enzima bactericida liberada pelos neutrófilos, que está envolvida no desenvolvimento de doenças cardiovasculares por seu poder pró-aterogênico. Ela atua desestabilizando o endotélio, alterando o tônus vasomotor, modifica a produção de óxido nítrico e oxida molécula de lipoproteína de baixa densidade (LDL - colesterol). (Nicholls, Hazen, 2009). Ela atua catalisando a formação de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio, que contribuem para o dano tecidual. (Roman R.M., 2006; Arnhold J, 2010). Muitos estudos demosntram que a mieloperoxidase é um biomarcador sensível e precoce de risco cardiovascular (Esporcatte e cols, 2007;
Tang et al, 2011; Zhang et al, 2001), contudo, pouco estudos relacionam a avaliação da mieloperoxidase para monitoramento de risco cardiovascular em indivíduos expostos a praguicidas. Desta maneira, estudamos a possibilidade de a mieloperoxidase se encontrar alterada em indivíduos expostos a substâncias que aumentam o risco de doença cardiovascular; o trabalho visa definir, ou auxiliar na definição de intervalos de referência para a mieloperoxidase, em condições de saúde e doença, principalmente em indivíduos expostos a praguicidas, que muitas vezes apresentam sintomas agudos, mas tem a exposição crônica negligenciada.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:
Definir os níveis de mieloperoxidase em indivíduos expostos a praguicidas, correlacionando outros fatores metabólicos e parâmetros laboratoriais no auxílio diagnóstico.
Objetivo Secundário:
- definir se a MPO encontra-se elevada no soro de indivíduos expostos a praguicidas;

- correlacionar os níveis séricos de MPO aos de outros marcadores inflamatórios;
- correlacionar os níveis séricos de MPO à condição clínica dos indivíduos expostos aos praguicidas, definindo os valores de referência nos expostos e não expostos
- avaliar o status antioxidante no soro dos indivíduos expostos aos praguicidas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:
Desconforto mínimo para retirada de sangue utilizando somente material descartável. Os riscos são mínimos para pesquisadores e voluntários e estão relacionados à coleta venosa de sangue.
Benefícios:
O sucesso nessa linha de investigação pode ser alcançado com a investigação biotecnológica voltada para o diagnóstico clínico-laboratorial. Os benefícios de resultados promissores neste tipo de investigação, além da obtenção de dados para elaboração de novos kits
diagnósticos (nacionais) que podem gerar patentes e benefícios associados como royalties, se estendem também à prevenção e melhoria da saúde do paciente pré-disposto, menores taxas de internação e de custos para o sistema público de saúde. Neste contexto, a mieloperoxidase é um parâmetro de grande potencial preditivo de risco cardíaco e para o diagnóstico precoce de doenças cardiovasculares e processos inflamatórios.
Entre as perspectivas após a execução do projeto, espera-se que: - o laboratório de pesquisa tenha evoluído em sua organização estrutural para pesquisa; - os estudantes/docentes tenham atingido maior maturidade profissional, científica e capacitação técnica; - os dados possam ser (parcial
ou totalmente) publicados em revistas de alto fator de impacto ou classificação A1, A2, B1 ou B2 do sistema Qualis-CAPES;

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Esclarecimento do efeito da exposição aos praguicidas para os diferentes parametros laboratoriais propostos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto está devidamente preenchida ainda conta com a autorização da Prefeitura Municipal de Serranópolis do Iguaçu.O TCLE está correto e tambem possui TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE USO DE IMAGEM E/OU ENTREVISTA.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Parecer Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PONTA GROSSA, 28 de Setembro de 2012

Assinado por:
ULISSES COELHO

(Coordenador)

Endereço: Av. Gen. Carlos Cavalcanti, nº 4748 bl M sala 12
Bairro: **CEP:** 84.030-900
UF: PR **Município:** PONTA GROSSA
Telefone: (42-)3220-3108 **Fax:** (42-)3220-3102 **E-mail:** seccoep@uepg.br