

PERFIL LIPÍDICO E PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS NO PLASMA DE TRABALHADORES DE POSTOS DE GASOLINA DO MUNICÍPIO DE TERESINA

Mariana Batista Gonçalves (Bolsista do ICV/UFPI), Aline de Almeida Sousa e Silva (Colaboradora - UFPI), Raphaela Martins Ferraz dos Santos (Colaboradora - UFPI), Dra. Regina Célia de Assis (Orientadora, Depto de Bioquímica e Farmacologia- UFPI)

Introdução

Os radicais livres são formados em um cenário de reações de óxido-redução, isto é, cedem o elétron solitário, oxidando-se, ou recebem outro, reduzindo-se. Dentre os radicais livres, podemos citar os radicais superóxido, hidroperoxila, hidroxila, oxigênio singlet, peróxido de hidrogênio (FERREIRA & MASTUBARA, 1997; BARREIROS, 2006).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação dos radicais livres, porém a membrana celular é um das mais atingidas, em decorrência da peroxidação lipídica, que acarreta alterações em sua estrutura e permeabilidade. As principais metodologias utilizadas para a avaliação a lipoperoxidação em sistemas biológicos medem a formação de produtos gerados durante as diferentes fases deste processo. Um dos métodos utilizados para se determinar a concentração de hidroperóxidos, produtos primários da peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados, em amostras biológicas, é aquele que utiliza o xilenol-orange o FOX2 (LIMA et al, 2004; ABUJA, ALBERTINI, 2001; NOUROOZ-ZADEH, 1999).

A gasolina, bem como os aditivos químicos misturados a esse combustível, são largamente utilizados no Brasil. Entre seus componentes, encontram-se diversas substâncias voláteis, cujos efeitos tóxicos advindos de exposição prolongada não estão suficientemente documentados. Determinadas ocupações obrigam o profissional a conviver diariamente com tais compostos voláteis, como é o caso dos frentistas dos postos de gasolina (AHMED, 2001).

Em vista do grande número de postos de gasolina em nossa região e da falta de conhecimento acerca dos possíveis danos celulares oxidativo decorrentes da exposição aos constituintes voláteis, justificou a realização deste estudo que visou avaliar a influência de tais substâncias voláteis determinando nível de radicais livres (peróxido de hidrogênio) no plasma de frentistas de postos de gasolina dessa cidade.

Metodologia

O grupo caso foi composto por 90 frentistas de postos de gasolina do município de Teresina. Os postos foram selecionados aleatoriamente por meio de sorteio prévio. O grupo controle foi composto por 91 trabalhadores incluindo operários da construção civil e profissionais da limpeza da UFPI selecionado ao acaso. A população do grupo controle foi escolhida objetivando-se eliminar ao máximo as diferenças em relação ao grupo caso no que diz respeito à faixa etária e a fatores socioeconômicos e que pudessem interferir no perfil lipídico e do estresse oxidativo.

Os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, no qual informa os riscos e benefícios da pesquisa. Aplicou-se um questionário, em que os frentistas responderam sobre dados de identificação, dados socioeconômicos e presença de fatores que pode interferir no estresse oxidativo. Foram realizadas medidas antropométricas como circunferência abdominal e aferição da pressão arterial e esses dados coletados foram registrados em fichas devidamente estruturadas.

Após a realização do questionário, coletou-se 10 mL de sangue por punção venosa dos participantes que estavam em jejum de 12 horas e colocados em dois tubos a vácuo um contendo EDTA e ou gel separador. A coleta foi realizada em postos de gasolina e do grupo controle foi coletado no canteiro de obra e na UFPI (os funcionários da limpeza), em horário previamente agendado com o respectivo trabalhador. As amostras de sangue foram centrifugadas obtendo-se o soro e plasma, imediatamente utilizados para determinação do perfil lipídico e peróxido de hidrogênio respectivamente.

O perfil lipídico foi realizado no Laboratório de Pesquisa do Setor de Bioquímica da Universidade Federal do Piauí usando o método colorimétrico enzimático, seguindo as instruções do fabricante (Labtest). A dosagem do H_2O_2 no plasma teve como reagente primordial o FOX2. O processo foi feita em triplicata (6 eppendorfs), nos quais foram colocados 90 μ L de plasma. Em três deles, acrescentou-se 10 μ L de TPP (trifenilfosfina) e, nos outros três, 10 μ L de metanol (HPLC-grade). As amostras foram votexadas e incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente. Depois disso, adicionou-se 900 μ L de FOX2 e em seguida foram novamente votexadas e incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente. Subseqüentemente, as amostras foram postas numa microcentrifuga (Sigma) sob temperatura de 20°C por 10 minutos. A leitura das absorbâncias do sobrenadante das amostras foi feita no espectrofotômetro em 560nm, tendo o FOX2 como zero. Posteriormente, foi feita a determinação da concentração de H_2O_2 do plasma usando curva de calibração para concentração de H_2O_2 com $r = 0,9998$, através da diferença entre as médias das absorbâncias encontradas nas amostras sem TPP e com TPP (NOUROOZ-ZADEH, 1999).

As análises estatísticas os dados foram tabulados e processados pelo programa SPSS versão 14.0 (SPSS Inc., 2010), para verificar a existência de associação entre as variáveis em estudo utilizando correlação de Pearson e considerando o nível de significância de 5%, ou seja, $p < 0,05$.

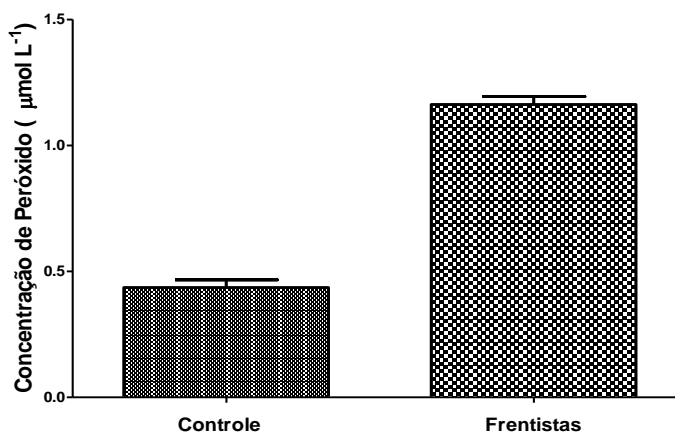
Resultados e Discussão

Nos resultados apontaram uma predominância do sexo masculino na amostra, tanto no grupo caso quanto no controle, ambos com o sexo masculino representando 95,6% do total. Com relação ao tabagismo, a porcentagem de não fumantes é preponderante na amostra, representando 77,8% no grupo caso e 57,1% no grupo controle. Quanto à ingestão de bebidas alcoólicas, 76,7% dos frentistas ingerem bebidas regularmente, ao passo que 82,4% do grupo controle o faz regularmente. Estudos demonstraram correlações positivas entre o tabagismo e etilismo e estresse oxidativo.

A atividade física “crônica” de intensidade moderada diminui os danos oxidativos. Nesse contexto os resultados obtidos demonstram que 50,0% dos frentistas apresentaram nível de atividade física insuficientemente ativa, enquanto que 46,2% do grupo controle são insuficientemente ativos. Dessa forma nossos dados demonstraram que gasolina pode ser um fator de estresse oxidativo, visto que o nível de peróxido de hidrogênio no grupo controle foi em média em torno de 0,420 (desvio padrão de 0,290) enquanto que no grupo dos frentistas essa concentração tem média em torno de 1,163 (desvio padrão de 0,302) (Figura 01).

Quando foi analisado se o tempo de exposição a gasolina seria um fator que pudesse contribuir para aumentar os níveis de peróxido de hidrogênio, os resultados demonstraram que 14 frentistas com um ano de exposição não apresentaram níveis de peróxido de hidrogênio elevados comparados aos níveis da amostra total.

Figura 01: Concentração de Peróxido de Hidrogênio nos grupos.



Laboratório de Bioquímica da UFPI, 2012.

Ao analisar as diferenças nas médias das variáveis (idade, circunferência abdominal, pressão sistólica, pressão diastólica, pressão arterial, perfil lipídico) entre o grupo teste e controle, concluímos que nenhuma dessas diferenças foi significativa estatisticamente, com exceção do peróxido de hidrogênio onde encontramos $p < 0,05$.

Ao analisar a correlação entre as variáveis: perfil lipídico, circunferência abdominal e idade com o peróxido de hidrogênio, observou que não houve uma correlação significativa. Isso é mais uma evidência de que a gasolina é a responsável pelo estresse oxidativos. Este fato é corroborado com a correlação do peróxido de hidrogênio com o tempo de serviço do frentista.

Conclusão

Diante dos dados obtidos, conclui-se que o método FOX2 é eficaz para medir os níveis de peróxido de hidrogênio no plasma do sangue. Nossos resultados mostram ainda que a gasolina é um agente causador do estresse oxidativo em atendentes de posto de gasolina. O papel da gasolina na formação de radicais livres pôde ser determinado, pois outras possíveis causas para a diferença das concentrações de peróxido entre os grupos teste e controle (como idade, perfil lipídico e obesidade abdominal) não se mostraram significativas nesse trabalho.

Apoio UFPI.

Referências

AHMED, F. E. Toxicology and human health effects following exposure to oxygenated or reformulated gasoline. *Toxicology Letters*, v. 123, p.89-113, 2000.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev. Ass. Med. Brasil*, v.43, n.1, p. 61-8, 1997.

NOUROOZ-ZADEH J. Ferrous íon oxidation in presence of xylenol Orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods in enzymology*, v. 300, p. 58-62, 1999.

LIMA, S. C. V. C.; ARRAIS, R. F.; ALMEIDA, M. G.; SOUZA, Z. M.; PEDROSA, L.F.C. **Perfil lipídico e peroxidação de lipídeos no plasma em crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade.** *J. Pediatr. (Rio J.)*, v. 80, n.1, p.23-28, 2004

ABUJA, P. M.; ALBERTINI, R.; **Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins.** *Clin. Chim. Acta*, v. 306, p.1-17. 2001.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo.** *Quim. Nova*, v. 29, p. 113-123, 2006.

Palavras-chave: Peróxido de Hidrogênio. Gasolina. Danos Celulares.