

ENCUENTRO DE
INVESTIGADORES

Construyendo el conocimiento
científico en el Paraguay

24 al 26 de agosto de 2016



Evaluación del efecto protector antigenotóxico de la vitamina E y del beta caroteno por el ensayo del cometa y el test de Micronúcleos en mujeres recicladoras expuestas a contaminantes del vertedero Cateura - Asunción Paraguay

Franco de Diana Deidamia; Segovia Jaime; Figueredo Rafael; Cillia Carmiña; Vega Celeste
Laboratorio de Genética Toxicológica – Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción

Introducción

Los resultados obtenidos en la primera parte de esta investigación sugieren que la exposición ocupacional aumenta el daño basal en el DNA, pues con el ensayo del cometa y el análisis de Micronúcleos de epitelio bucal, se observó un incremento de daño genotóxico en trabajadoras ocupacionalmente expuestas, en relación a los controles. Estos resultados apuntan al riesgo potencial genotóxico presente en el vertedero analizado.

Así mismo, este estudio advirtió del potencial riesgo de desarrollar enfermedades como el cáncer y la necesidad de desarrollar programas de prevención que mitiguen los riesgos de exposición ocupacional entre los trabajadores del vertedero.

Se define como quimio prevención del cáncer al uso de productos químicos o componentes de la dieta para inhibir o revertir el desarrollo de cáncer. Se han identificado un gran número de quimio preventivos potenciales que funcionan con mecanismos dirigidos a las diferentes etapas de la carcinogénesis (1) Por lo tanto como una estrategia para prevenir el efecto genotóxico se utiliza ampliamente carotenoides especialmente Beta caroteno y suplementos de vitamina E.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto protector antigenotóxico de la vitamina E y del beta caroteno por el ensayo del cometa en linfocitos de sangre periférica y por el test de Micronúcleos en células de la mucosa bucal de mujeres recicladoras expuestas a contaminantes del vertedero Cateura - Asunción Paraguay .

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el nivel de daño basal en el ADN por la técnica del Cometa en linfocitos de sangre periférica y por el test de MN en células epiteliales de la mucosa bucal de mujeres recicladoras del Vertedero Cateura
- Evaluar el estado nutricional de las mujeres recicladoras del Vertedero
- Evaluar el nivel de daño en el ADN por la técnica del Cometa en linfocitos de sangre periférica y por el test de MN en células epiteliales de la mucosa bucal de mujeres recicladoras del Vertedero Cateura que fueron sometidas a un tratamiento preventivo con suplementos de vitamina E y Beta caroteno como antioxidantes y utilizaron equipos de protección para el manejo de basura
- Evaluar el efecto de la vitamina E y del Beta Caroteno sobre la calidad del ADN de mujeres recicladoras del vertedero Cateura
- Comunicar los resultados de la investigación y realizar campañas de prevención y protección que permitan mejorar las condiciones laborales y de salubridad de las personas que actualmente trabajan en el Vertedero.
- Desarrollar y difundir programas de protección para el manejo de basura en el Vertedero de manera a prevenir futuras manifestaciones de enfermedades como el cáncer.
- Recomendar y proporcionar a la comunidad trabajadora del vertedero un plan de nutrición enriquecido con vitamina E y beta caroteno que estimule la capacidad de reparación del ADN y actúe como mecanismos de protección .
- Divulgar los resultados en medios de acceso público y en el ámbito científico

METODOLOGÍA

Corresponde a un estudio cuasi experimental, pues la propia población expuesta será el control, en la que se medirá el efecto genotóxico o daño en el ADN basal, al inicio del estudio y luego del tratamiento con suplementos de vitamina E y beta caroteno, mediante la técnica del Cometa y el test de Micronúcleos . Estos valores de daño basal serán comparados con los valores del daño basal de una población no expuesta.

POBLACIÓN ENFOCADA :Recicladoras de basura del vertedero Cateura , Municipio de Asunción, de edad comprendida entre 20 a 50 años

POBLACIÓN ACCESIBLE Mujeres que trabajen desde el año 2004 ,en el vertedero Cateura , del Municipio de Asunción,de edad comprendida entre 20 y 50 años de edad y que acepten participar del estudio.

Criterios de inclusión: mujeres en edad fértil que trabajen 6 horas o más de recicladoras en el vertedero Cateura. Se considerará como factores de confusión consumo de alcohol, fumadoras. Consumo de drogas y medicamentos etc. Criterios de exclusión mujeres cuya edad no este comprendido en el rango determinado de 20 a 50 años ,mujeres que no deseen participar en la investigación , recicladoras ocasionales, mujeres que estén bajo tratamiento quimioterapéutico.

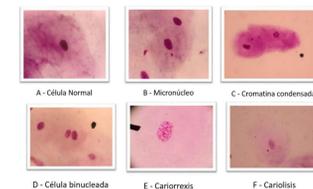


ANALISIS GENOTOXICO

1. Análisis de micro núcleos en células exfoliadas de mucosa bucal:

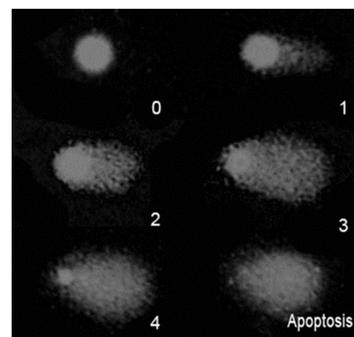
Se realizará un raspado de la cara interna de la mejilla de los individuos con un baja lengua de madera y se hará un extendido de la muestra en una lámina portaobjeto. Se fijaran las láminas de las muestras obtenidas con metanol / ac. Acético (3:1). Se utilizará la reacción de Feulgen para la coloración de las láminas, como contrastante del citoplasma, se utilizarán filtros especiales del microscopio , y se analizaran las células de acuerdo a la técnica de Tolbert, 1992.

Se evaluaran 1000 células por individuo y se determinará para cada uno de ellos la frecuencia de micro núcleos, según Tolbert,1992

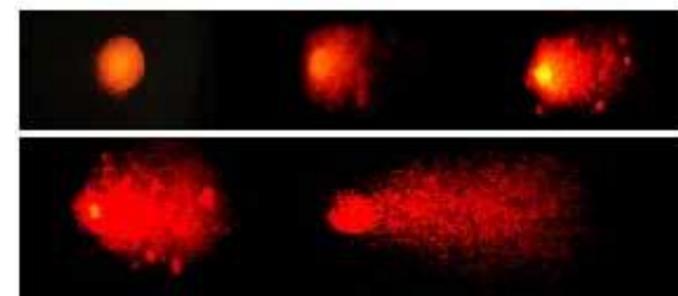


2. Test de cometa como biomarcador de efecto por cada uno de los participantes:

Se obtendrán 20 µl de sangre periférica del dedo anular de cada uno de los participantes. Se depositará la muestra en portaobjetos gelificados con agarosas específicas y características para este tipo de análisis, luego se depositarán las láminas con las muestras obtenidas en cubetas de electroforesis de 4°C, las placas se teñirán con Bromuro de Etidio (10 µg/ml) se analizarán las muestras bajo el microscopio de fluorescencia, con un aumento de 20X,para evaluar el daño se observarán 200 células por individuo. El análisis de las células se realizará por el Software Comet imager de la firma METASYSTEM, Germany y se utilizará el microscopio de inmunofluorescencia de la marca Zeiss , y se obtendrán los valores del momento de la cola (TM) y el momento Oliva. Las muestras se tomarán in situ en campo, por lo que serán transportadas refrigeradas y protegidas de la luz al laboratorio para su procesamiento.



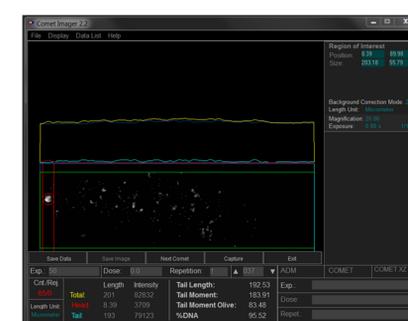
Niveles de daño según el tamaño de la cola del cometa



Cometas observados con el microscopio de fluorescencia



Medida del tamaño de la cabeza y de la cola con el Software Comet Imager



Medida del tamaño de la cabeza y de la cola con el Software Comet Imager

TRATAMIENTO CON VITAMINA E Y BETA CAROTENO COMO ANTIOXIDANTES.

En base a la literatura (23) se le proporcionará a las recicladoras una dosis diaria 400 mg de vitamina E y 20 mg de beta caroteno, por día durante cuatro meses y se les sugerirá una dieta rica en antioxidantes.

RESULTADOS ESPERADOS

Se espera obtener datos a cerca de la capacidad protectora del material genético de los antioxidantes como la vitamina E y el Beta caroteno en mujeres recicladora expuestas laboralmente a los contaminantes del vertedero Cateura, y brindar una alternativa de mitigación al daño celular .Se desarrollarán en el laboratorio de Genética Toxicológica los bioensayos de Cometa y test de micronúcleos , participarán investigadores docentes de la Cátedra de Biología Celular y Genética , un médico nutriólogo, una Licenciada en nutrición y alumnos de la carrera de Medicina que forman parte del programa de iniciación científica.

IMPACTO DE LA PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN

Ante los resultados obtenidos en la investigación anterior y teniendo en cuenta que el trabajo que realizan las recicladoras es la fuente principal de ingresos para la familia , surge la necesidad de plantear en una segunda parte de la investigación, una solución parcial a la problemática planteada en estas condiciones de trabajo. Se propone un método de mitigación del daño observado , que incluye mecanismos de protección para el manejo de la basura y un plan nutricional rico en antioxidantes y un suplemento de vitamina E y beta caroteno, que según la literatura tienen efectos protectores antigenotóxicos y estimulan la reparación del ADN. Con los bioensayos del test del Cometa y el ensayo de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal se medirá la hipotética reducción del daño en el ADN y la probable disminución del factor de riesgo de que las células se transformen en cancerígenas.