

DOENÇA DA FOLHA VERDE: DANOS AO DNA E ESTRESSE OXIDATIVO EM PRODUTORES DE TABACO GAÚCHOS NA ÉPOCA DA COLHEITA



Laboratório de
Genética
Toxicológica

Juliana Picinini, Jodel Alves, Vivian Kahl e Juliana da Silva
Laboratório de Genética Toxicológica - ULBRA
julianapicinini@hotmail.com



INTRODUÇÃO

Apesar de ser importante para a economia do Brasil, o cultivo de tabaco representa risco à saúde dos agricultores, pois além da exposição aos agroquímicos há a exposição à nicotina. Ela está presente na superfície da folha e pode ser absorvida por contato dérmico, sendo metabolizada a diversos compostos. O principal metabólito é a cotinina, a qual pode induzir à Doença da Folha Verde (GTS, da sigla do inglês *Green Tobacco Sickness*), uma doença ocupacional.

OBJETIVO

Avaliar a incidência dos sintomas da GTS em agricultores do município de Santa Cruz do Sul durante o período da colheita; o balanço oxidativo; a presença de danos ao DNA e sua relação com a idade e tempo de exposição.

METODOLOGIA

O estudo envolveu um total de 40 homens, 20 do grupo exposto (fumicultores que participaram da colheita) e 20 do grupo controle (que não trabalhavam na agricultura), pareados por idade. Os indivíduos preencheram um questionário e tiveram amostras de sangue coletadas. A dosagem de cotinina plasmática foi realizada por HPLC-UV e o balanço oxidativo foi determinado utilizando-se a Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) e a peroxidação lipídica sérica foi medida por Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). Os danos ao DNA foram avaliados pelo ensaio Cometa alcalino, analisando-se 100 células por indivíduo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os participantes do estudo tinham idade média de 42,0 anos (desvio padrão de $\pm 14,0$ anos) e o tempo médio de exposição dos agricultores foi de 29 anos. Os principais sinais e sintomas do GTS descritos pelo grupo exposto são apresentados na Tabela 1. Um aumento significativo no nível sérico de cotinina (Figura 1) foi observado no grupo dos agricultores quando comparado ao grupo controle, confirmando a exposição. Quanto ao balanço oxidativo, houve um aumento significativo apenas dos níveis de TBARS para os agricultores em relação ao grupo controle (Figura 2), indicando estresse oxidativo sofrido pelos agricultores. Os resultados do ensaio Cometa mostraram um aumento significativo para o grupo exposto tanto no índice quanto na frequência de danos em relação aos controles (Tabela 2). Uma correlação inversa significativa foi encontrada entre danos ao DNA e idade para ambos os grupos (Figura 3), assim como para os agricultores quanto ao dano ao DNA e tempo de exposição (Figura 4). Sugere-se que os homens mais velhos são mais propensos a sofrerem morte celular, o que poderia explicar a diminuição do dano observado.

Sinais e Sintomas de GTS	n	Frequência (%)
Náuseas	11	55
Tonturas	01	05
Vômitos	03	15
Dor Abdominal	10	50
Cefaleia	10	50
≥ 2 Sinais ou Sintomas	11	55

Tabela 1: Sinais e sintomas da Doença da Folha Verde (GTS) descritos pelos indivíduos ocupacionalmente expostos à nicotina presente na folha de tabaco.

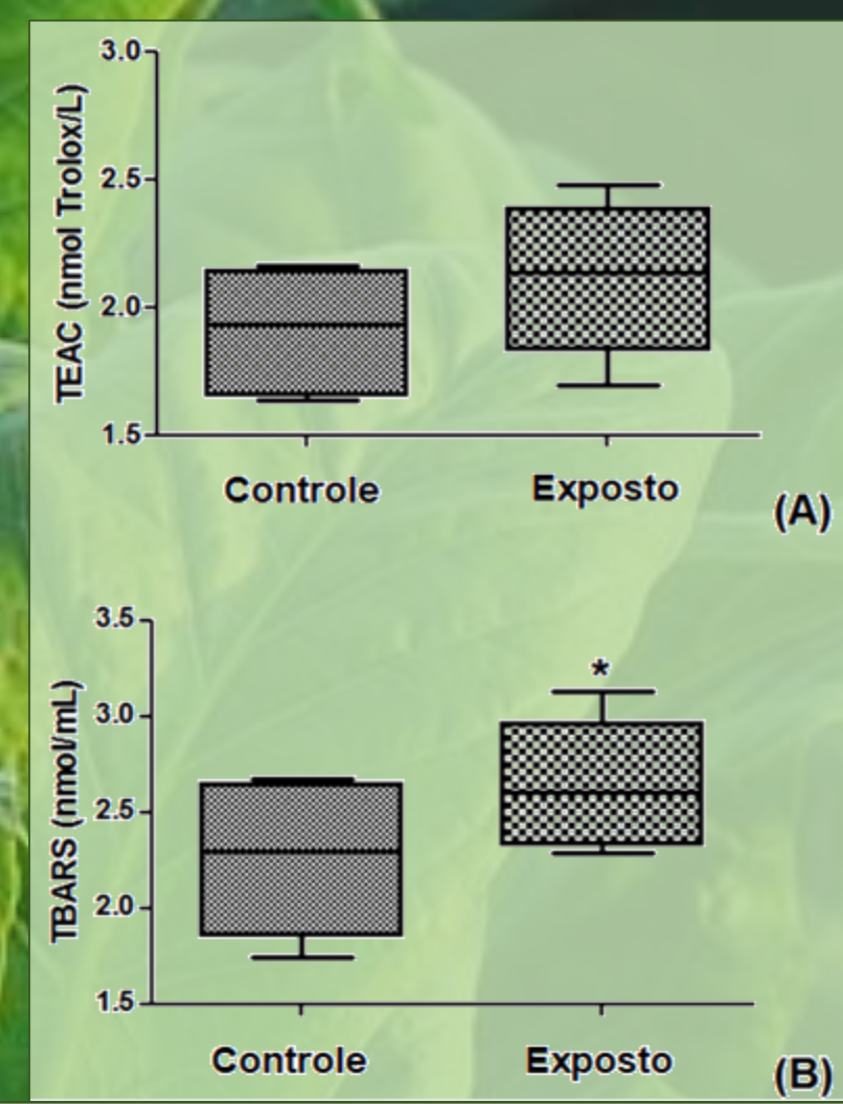


Figura 2: Média e desvio padrão obtidos para (A) Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox (TEAC) e (B) Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) para ambos os grupos. * Significativo em relação ao grupo controle com $p < 0,05$; Teste de Wilcoxon.

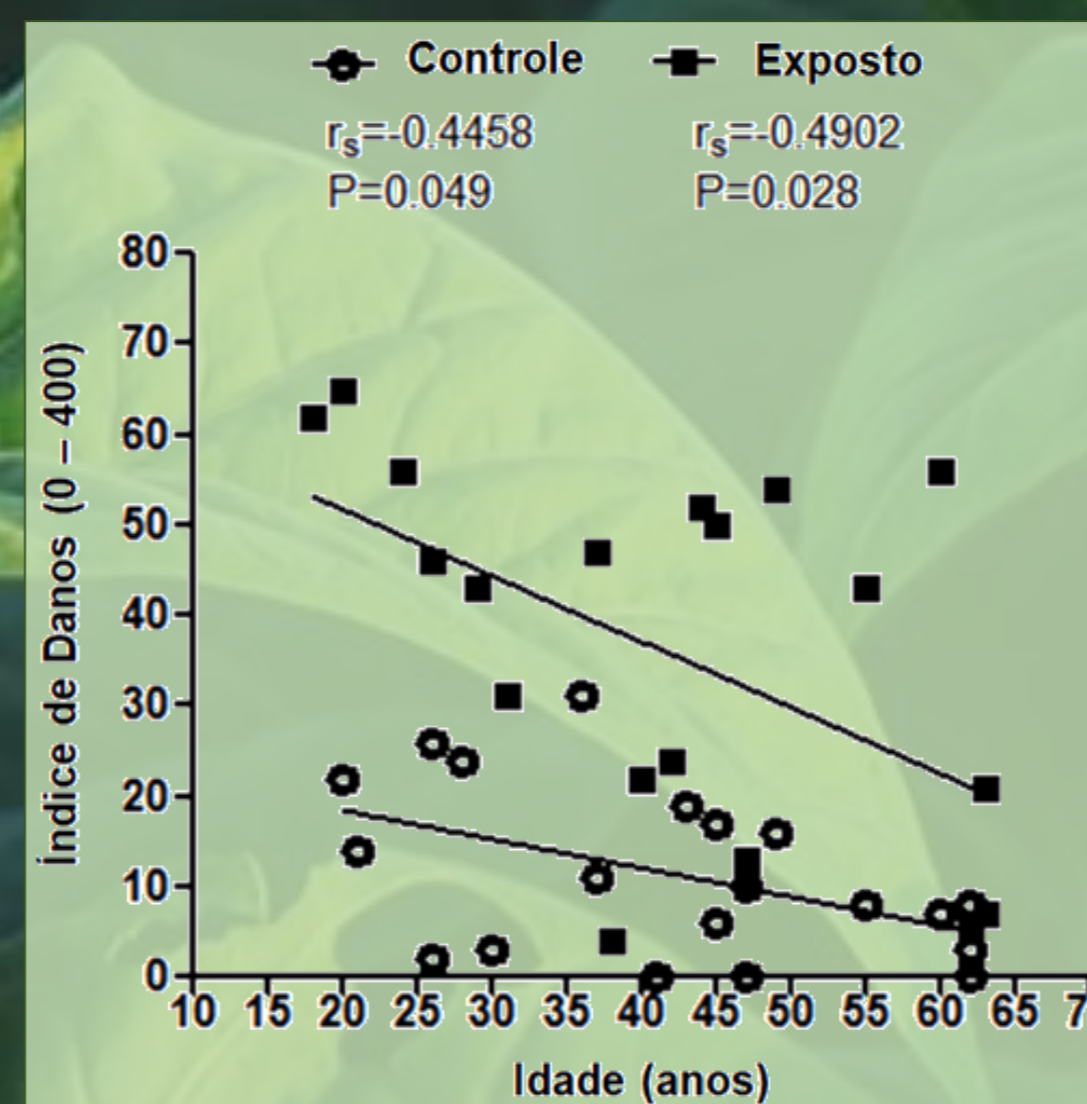


Figura 3: Correlação do dano ao DNA com a idade para grupos controle e exposto (teste de Spearman).

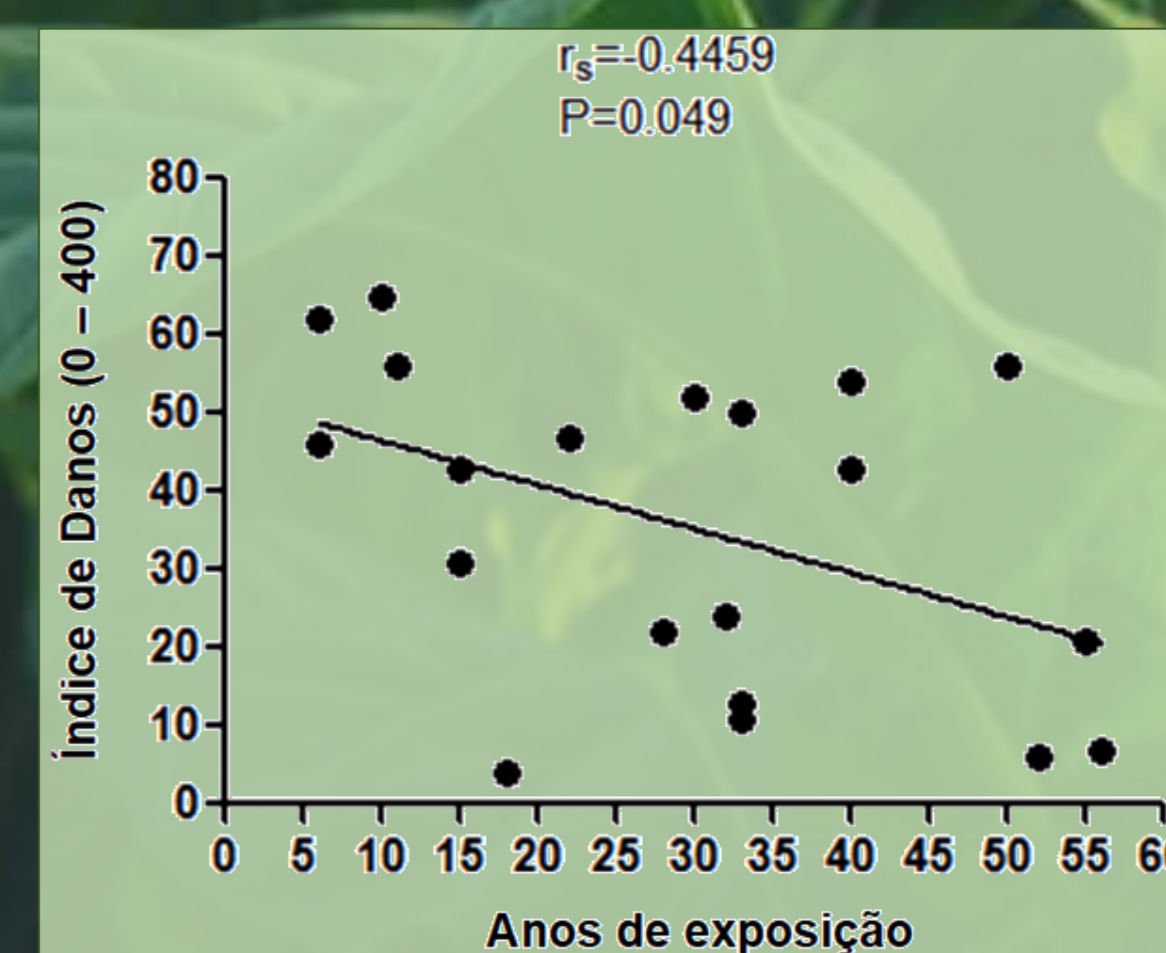


Figura 4: Correlação do dano ao DNA com tempo de exposição para grupo exposto (teste de Spearman).

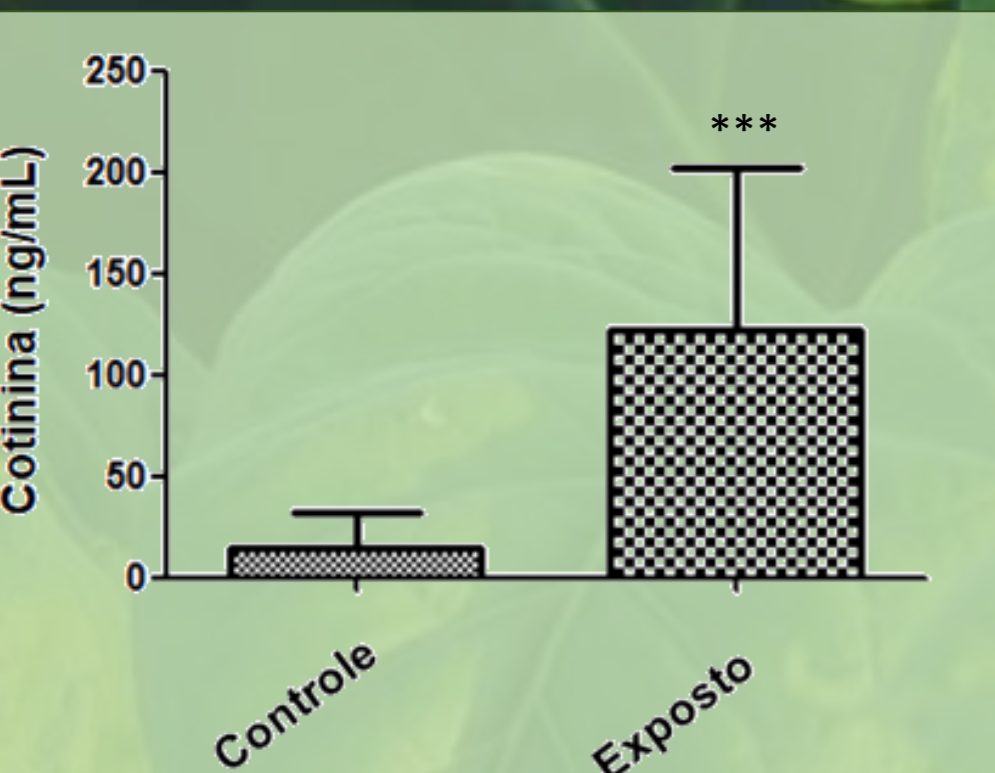


Figura 1: Concentração sérica de cotinina (ng/mL) em amostras de indivíduos dos grupos controle e exposto. *** $P < 0,001$; Teste de Wilcoxon.

Grupos	Controle	Exposto
Índice de Danos (0 - 400)	14,6 \pm 9,4	35,7 \pm 20,4 ***
Frequência de Danos (%)	11,8 \pm 7,1	23,0 \pm 10,9 ***

Tabela 2: Média e desvio padrão obtidos para o ensaio Cometa para os parâmetros analisados, para ambos os grupos. *** Significativo em relação ao grupo controle com $p < 0,001$; Teste de Wilcoxon.

CONCLUSÃO

Este estudo destaca os riscos genotóxicos devido exposição ocupacional à nicotina, a qual induz o estresse oxidativo. A prevenção da GTS deve basear-se em métodos para reduzir a absorção dérmica da nicotina, como o uso de equipamento de proteção individual (EPI), uma vez que não está ligada apenas aos sintomas clínicos da hipersensibilidade aguda, mas também a danos ao DNA.

REFERÊNCIAS

• Da Silva FR, Da Silva J, Allgayer MC, Simon CF, Dias JF, dos Santos CEI, et al. (2012) Genotoxic biomonitoring of tobacco farmers: biomarkers of exposure, of early biological effects and susceptibility. *J Hazard Mat* 226:81-90. • Arcury TA, Quandt SA, Preisser JS, Bernert JT, Norton D, Wang J. (2003) High levels of transdermal nicotine exposure produce green tobacco sickness in Latino farmworkers. *Nicotine Tob Res* 5:315-321. • Cattaneo R, Alegretti AP, Sagebin FR, Abreu CM, Petersen GO, Chatkin JM, et al. (2006) Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of cotinine in urine. *Rev Bras Toxicol* 19:25-31. • Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175:184-191. • Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. (2000) Single cell gel / Comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen* 35:206-221. • Wills ED. (1966) Mechanism of lipid peroxidation formation in animal tissues. *Biochem J* 99:667-676.