

**UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE - UNIVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE**

SONIA DOS SANTOS TORIANI

**A INFLUÊNCIA DO ORGANOFOSFORADO MALATION 500 EC®
NA FUNÇÃO HEPÁTICA, RENAL E TIREOIDIANA DE RATAS.**

**Joinville/SC
2017**

SONIA DOS SANTOS TORIANI

A INFLUÊNCIA DO ORGANOFOSFORADO MALATION 500 EC® NA FUNÇÃO HEPÁTICA, RENAL E TIREOIDIANA DE RATAS

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente na Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE.

Orientadora: Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira.

**Joinville/SC
2017**

Catalogação na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

T683i	<p>Toriani, Sonia dos Santos A influência do organofosforado Malation 500 EC® na função hepática, renal e tireoideana de ratas/ Sonia dos Santos Toriani; orientadora Dra. Terezinha Maria Novais de Oliveira. – Joinville: UNIVILLE, 2017.</p> <p>90 f. : il. ; 30 cm</p> <p>Dissertação (Mestrado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)</p> <p>1. Produtos químicos agrícolas. 2. Compostos organofosforados. 3. Toxicologia. 4. Tireóide - Doenças. I. Oliveira, Terezinha Maria Novais de (orient.). Título.</p> <p>CDD 615.7042</p>
-------	--

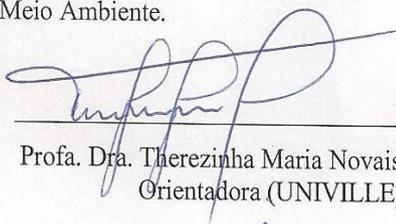
Termo de Aprovação

“A Influência do Organofosforado Malation 500 EC® na Função Hepática, Renal e Tiroidiana em Ratas”

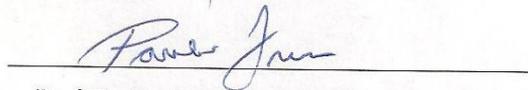
por

Sonia dos Santos Toriani

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.

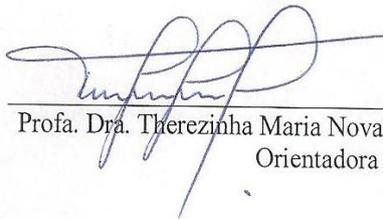


Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira
Orientadora (UNIVILLE)



Prof. Dr. Paulo Henrique Condeixa de França
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Banca Examinadora:



Profa. Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira
Orientadora (UNIVILLE)

Érika Dantas de M. Rocha
Profa. Dra. Érika Dantas de Medeiros Rocha
(IELUSC)



Profa. Dra. Daniela Derwing de Lima
(UNIVILLE)

Joinville, 06 de fevereiro de 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo que tem me proporcionado até hoje.

A minha querida orientadora Dra. Therezinha Maria Novais de Oliveira, que acreditou no meu projeto de estudo e me deu todas as condições para desenvolvê-lo, me orientando e me nortendo para a relação deste estudo com a saúde e meio ambiente, quem eu passei a admirar como pessoa e como profissional e de quem me orgulho muito de ter sido orientanda.

Também ao professor pesquisador e importante colaborador, MSc. Eduardo Manoel Pereira, que participou ativamente no desenvolvimento deste estudo, o qual após esta jornada juntos passei admirar muito, com carinho especial.

Reforço para estes dois profissionais minha eterna gratidão por tudo, graças à vocês dois me sinto uma pessoa privilegiada por poder contar com gigantes do conhecimento, que sem reservas compartilharam seu saber, que Deus os abençoe e ilumine sempre seus caminhos.

Agradeço muito a minha família, meus filhos razão da minha vida, que souberam compreender os momentos de ausência da mãe em virtude da dedicação aos estudos e ao meu amado e querido marido o maior incentivador e parceiro em todos os momentos, por isso sou grata pela família que tenho os quais AMO MUITO!

Agradeço o carinho e apoio da minha mãe, por tudo que ela me ensinou e pela pessoa que sou hoje.

Agradeço a minha banca de defesa, professora Dra Daniela Delwing de Lima e Dra Erika Dantas de Medeiros Rocha, pessoas muito especiais neste momento importante e mágico para mim.

E a parceira com o laboratório da cidade de Jaragua do Sul-SC, na análise do resultado dos exames de sangue das ratas.

E a todos os professores que através dos seus ensinamentos me mostraram nova visão sobre a importância de um meio ambiente equilibrado para garantir a saúde do ser humano e de todos os seres vivos, entendendo que parte deste sistema e não meros espectadores.

AGRADEÇO DE CORAÇÃO A TODOS

RESUMO

Alterações tireoidianas, renais e hepáticas afetam um número significativo da população e usualmente estão associadas a várias comorbidades, que além de aumentar o número de medicamentos que o paciente tem de ingerir todos os dias, também pode aumentar custos pessoais e governamentais para o tratamento. Vários fatores podem levar ao desenvolvimento do hipotireoidismo ou hipertireoidismo, dentre eles os genéticos e ambientais que estão relacionados ao estilo de vida e exposição aos agrotóxicos que podem agir como desruptores endócrinos, influenciando no funcionamento da tireoide, além de causar possíveis danos ao fígado e rim. Assim destacamos o Malathion (MLT) 500 EC[®], utilizado em várias culturas agrícolas, principalmente na cultura do tomate, um dos alimentos mais consumidos e importantes na dieta dos brasileiros. Frente a isso, o objetivo desse estudo foi verificar a influência do organofosforado MLT 500 EC[®] sobre a função hepática, renal e tireoidiana de ratas. Para tal, quatro grupos de dez ratas fêmeas (espécie *Rattus Norvegicus*, linhagem *Wistar*) com idade de 60 dias, foram expostas ao inseticida em doses de 10, 50 e 100 mg/kg via oral por 21 dias. O grupo de animais controle recebeu solução salina (0,1 mL/100 g por via oral). Posteriormente, foram analisados no sangue dos animais os parâmetros de função tireoidiana, hepática e renal para verificar os possíveis efeitos do agrotóxico sobre a função da tireoide e possíveis alterações hepáticas e renais. Os resultados mostraram que houve elevação significativa das enzimas transaminases hepáticas após exposição às doses de 50 e 100 mg/kg, porém não houve elevação significativa dos níveis de creatinina e ureia. Embora tenha sido observada ligeira tendência à elevação dos níveis de T3 e T4, essa diferença não atingiu significância estatística. Em relação aos níveis de TSH, foi observada alteração estatisticamente significativa para as três doses de MLT. Este estudo permite concluir que, nas doses e tempo de tratamento empregados, o MLT promoveu toxicidade hepática significativa nas doses de 50 e 100 mg/kg, porém não promoveu alterações relevantes das funções renal e tireoidiana, embora tenha causado leve elevação dos hormônios tireoidianos. Contudo, a queda significativa dos níveis de TSH em todas as doses utilizadas sugere que houve lesão hipofisária significativa, posto que a redução de TSH não foi acompanhada de redução dos níveis de T3 e T4. É possível que doses diferentes e períodos de administração mais longos possam evidenciar influências mais intensas sobre a secreção de hormônios tireoidianos pelo MLT.

Palavras-chave: agrotóxicos; Malathion; toxicologia; saúde ambiental; hipotireoidismo; hipertireoidismo.

ABSTRACT

Thyroid disease, renal and hepatic changes affect a significant number of the population are usually associated with other comorbidities, which besides increasing the number of medicine that the patient has to ingest every day, can also increase personal and governmental costs for treatment. Several factors can lead to the development of hypo or hyperthyroidism, including genetic and environmental ones, which are related to lifestyle and exposure to pesticides that can act as endocrine disruptors, possibly disturbing thyroid function and, in addition, may cause damage to the liver and kidneys. The organophosphate malathion (MLT) is largely used in the culture of tomatoes, one of the most consumed food in the Brazilian diet. Thus, the objective of this study was to verify the influence of the organophosphate MLT 500 ec® on thyroid, liver and kidneys functions in rats. four groups of 10 female rats (*rattus norvegicus*, *wistar*) were given MLT (10, 50, 100 mg/kg, p.o.) during 21 days. And control animals were given saline solution (0,1 ml/100g, p.o.). Blood samples were collected and analysed for thyroid, liver and kidney function parameters. Results show that there was significant liver enzymes elevation after 50 and 100 mg/kg treatment, but there was no significant creatinine and urea levels increase. Though a trend to T3 and T4 increase was observed, these data did not reach statistical significance. The results show that in the doses and time of exposure, MLT promoted significant liver toxicity, but did not alter kidney and thyroid functions significantly. However, it was observed intense TSH level decrease after every treatment, which suggests relevant hypophysary damage, once this decrease was not concomitant with T3 and T4 levels reduction. Possibly, different doses and time of exposure might result in different outcomes and evidence more intense influences upon thyroid hormones secretion caused by MLT.

Keywords: pesticides, Malathion, toxicology, environmental health; hypothyroidism, hyperthyroidism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura química do malathion 500 EC	24
Figura 2.	Esquema do funcionamento do sistema endócrino	34
Figura 3.	Localização da glândula tireoide.....	36
Figura 4.	Estrutura química dos hormônios T3 e T4	38
Figura 5.	Percentual das manifestações clínicas do hipertireoidismo.....	41
Figura 6.	Sinais e sintomas clínicos do hipotireoidismo e do hipertireoidismo	44
Figura 7.	Concentração sanguínea de transaminase glutâmico oxalacética (TGO) ou aspartato aminotransferase (AST) dos animais após tratamento com MLT	53
Figura 8.	Concentração sanguínea de transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) ou alanina aminotransferase (ALT) dos animais após tratamento com MLT.....	54
Figura 9	Concentração sanguínea de ureia dos animais após tratamento com MLT	60
Figura 10	Concentração sanguínea de creatinina dos animais após tratamento com MLT	61
Figura 11.	Concentração sanguínea de T3 dos animais após tratamento com MLT.....	64
Figura 12.	Concentração sanguínea de T4 dos animais após tratamento com MLT.....	65
Figura 13.	Concentração sanguínea de TSH dos animais após tratamento com MLT.....	66

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Classificação dos agrotóxicos em classes por grau de toxicidade .	20
Quadro 2.	Distribuição das doses do organofosforado MLT, por grupos de ratas para estudo (grupo controle e grupo tratado)	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACTH:** Hormônio adrenocorticotrófico
- ANDEF:** Associação Nacional de Defensivos Agrícolas
- ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CCAB:** Comitê do *Codex Alimentarius* do Brasil
- CCPR:** Comitê sobre Resíduos de Pesticidas
- DCNT:** Doenças crônicas não transmissíveis
- ECG:** Eletrocardiograma
- FAO:** Organização das Nações Unidas
- FSH:** Hormônio folículo estimulante
- GH:** Hormônio de crescimento
- IBAMA:** Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
- IDA:** Ingestão diária aceitável
- IDMT:** Ingestão diária máxima teórica
- IDA:** Ingestão diária máxima
- IDMT:** Ingestão diária máxima teórica
- IGF-1:** Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1
- INCA:** Instituto Nacional do Câncer
- LH:** Hormônio luteinizante
- LMR:** Limite máximo de resíduos
- MLT:** Malation
- OF:** Organofosforados
- OMS:** Organização Mundial da Saúde
- PF:** Produtos formulados
- PARA:** Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
- QT:** Intervalo da frequência cardíaca
- RDC:** Resolução da Diretoria Colegiada
- RX:** Raio x
- SNVS:** Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
- TGO:** Transaminase glutâmico oxalacética
- TGP:** Transaminase glutâmico pirúvica

T3: Triiodotironina

T4: Tetraiodotironina

TSH: Tireotrofina (Hormônio Estimulante da Tireoide)

UED: Unidade de Endocrinologia e Diabetes

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1	INTRODUÇÃO	13
1.2	CONTEXTO INTERDISCIPLINAR DO ESTUDO	16
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	Agrotóxicos	18
3.1.1	Classificação dos agrotóxicos	19
3.2	Organofosforados (OF)	21
3.2.1	Toxicodinâmica	21
3.2.2	Toxicocinética	22
3.2.3	Diagnostico e tratamento de intoxicações por organofosforados	22
3.3	Organofosforado MLT 500 EC[®]	23
3.3.1	Aplicação	24
3.3.2	Toxicodinâmica	25
3.3.3	Toxicocinética	26
3.3.4	Manifestações clínicas de intoxicação por MLT	26
3.3.5	Limite máximo de resíduos (LMR) para MLT	27
3.4	Contaminação do meio ambiente	27
3.4.1	Contaminação da água e ambiente aquático	28
3.4.2	Contaminação e resíduos em alimentos.....	28
3.5	LMR dos resíduos de agrotóxicos nos alimentos	30
3.6	Forma de avaliação do LMR para seres humanos e animais	31
3.7	Sistema endócrino	33
3.7.1	Função das glândulas endócrinas	34
3.7.3	Glândula tireoide	36
3.7.3.1	Função da tireoide	38
3.7.3.2	Alterações da tireoide.....	38
3.7.4	Hipertireoidismo.....	39
3.7.4.1	Fisiopatologia do hipertireoidismo	39

3.7.4.2	Incidência do hipertireoidismo	39
3.7.4.3	Classificação do hipertireoidismo	40
3.7.4.4	Sinais e sintomas clínicos do hipertireoidismo	40
3.7.4.5	Tratamento do hipertireoidismo	41
3.7.5	Hipotireoidismo	42
3.7.5.1	Fisiopatologia do hipotireoidismo	42
3.7.5.2	Incidência do hipotireoidismo	42
3.7.5.3	Hipotireoidismo primário.....	43
3.7.5.4	Hipotireoidismo secundário.....	43
3.7.5.5	Hipotireoidismo terciário	44
3.7.5.6	Sinais e sintomas clínicos do hipotireoidismo	44
3.7.5.7	Diagnostico e tratamento do hipotireoidismo.....	45
4	METODOLOGIA	50
4.1	Desenho do estudo	50
4.2	Reagentes	50
4.3	Amostra selecionada	50
4.4	Protocolo experimental.....	51
4.4.1	Estudo <i>in vivo</i>	51
4.5	Análise bioquímica do nível sanguíneo de hormônios	52
4.6	Apresentação dos dados e análise estatística.....	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	Avaliação da função hepática	53
5.2	Avaliação da função renal	59
5.3	Avaliação da função tireoidiana	64
5.3.1	Hormônio T3	64
6	CONCLUSÃO	75
7	REFERÊNCIAS	76

1 INTRODUÇÃO

As patologias relacionadas com o sistema endócrino podem causar inúmeras alterações no metabolismo do ser humano, em especial relacionadas aos hormônios tireoidianos, conhecidas como hipotireoidismo ou hipertireoidismo. Estes distúrbios acometem pessoas acima de 75 anos, principalmente do gênero feminino, e pode ter relação com a hereditariedade (ROBERTES & LADENSON, 2004; BRENTA *et al.*, 2013).

O hipotireoidismo é caracterizado por uma condição metabólica alterada, resultante de quantidade insuficiente de hormônios circulantes da glândula tireoide para suprir uma função orgânica normal. Pode ser severo ou moderado, causando diversas alterações no organismo humano, sendo mais predominante em mulheres e idosos. Atinge entre 8% a 10% da população brasileira e pode ser classificado como: hipotireoidismo primário, secundário, terciário, subclínico e congênito (LOPES, 2002; BRENTA *et al.*, 2013).

Em relação ao hipertireoidismo, a incidência média em mulheres é de 8 casos a cada 1000 pessoas/ano, sendo 2% a 3% em mulheres e 0,2% em homens. A característica principal do hipertireoidismo é o aumento da produção e liberação dos hormônios tireoidianos pela glândula tireoide (LOPES, 2007; BRENTA *et al.*, 2013).

Estas patologias podem ser causadas por diversos mecanismos, e possivelmente por ação de agrotóxicos, devido à sua atividade nociva ao organismo ao nível de vários sistemas. Mesmo em concentrações muito baixas, os agrotóxicos podem ser capazes de interferir no funcionamento normal da tireoide, agindo como disruptores endócrinos. Além disso, podem causar câncer; afetar negativamente o sistema reprodutivo, principalmente na diminuição da produção de espermatozoides, além de afetar a função hepática e renal (FRÉCHOU *et al.*, 2002; GUYTON & HALL, 2012). Dentre os agrotóxicos, destacam-se os organofosforados (OF), que causam inúmeros efeitos negativos para a saúde humana, principalmente neurotóxicos, possivelmente envolvidos na desregulação do eixo hormonal da tireoide (BRASIL, 2012).

Com o intuito de evitar danos à saúde, é determinada a ingestão diária aceitável (IDA) que uma pessoa pode consumir do resíduo de cada agrotóxico contido no alimento sem causar danos à saúde por tempo prolongado, levando em consideração o limite máximo de resíduos (LMR) de cada agrotóxico empregado na lavoura durante o cultivo. No caso específico do Malathion (MLT), a IDA é de 0,3 mg/kg/dia para o ser humano (BRASIL(a), 2009). Contudo, na prática é difícil monitorar a quantidade que as pessoas estão expostas diariamente em seus lares, dada a ampla variação do teor de resíduos deste OF em diversos alimentos cultivados em nosso país e também dos cuidados relativos à remoção dos resíduos antes do consumo do alimento. Assim, a prática de uso indiscriminado de agrotóxicos expõe produtores e consumidores aos riscos para a saúde, além de contribuir para danos ao meio ambiente (ARAUJO *et al.*, 2007). Mesmo com todos os procedimentos diferenciados na hora da preparação dos alimentos, que podem minimizar ou eliminar a quantidade de resíduos de agrotóxicos, a população continua exposta aos resíduos de agrotóxicos nos alimentos, que não são eliminados totalmente na hora da preparação (SERRANO *et al.*, 2013).

Vale salientar que, apesar de seus resíduos serem metabolizados e eliminados através da urina e das fezes, este inseticida é distribuído por todos os tecidos do organismo após sua absorção, acumulando-se principalmente no fígado, onde é metabolizado, e nos rins que os excretam (ADAPAR, 2012). De acordo com o estudo de Ferman & Antunes (2009), o ser humano pode ser 10 vezes mais sensível a exposição de produtos tóxicos que os animais, assim, o dano causado pelos compostos químicos testados poderá ser até 10 vezes maior em comparação a outras espécies.

Portanto, a exposição diária a produtos químicos, pesticidas, radiação, poluição do ar e da água, somados à predisposição genética, acarretam riscos para a saúde e qualidade de vida das pessoas. Os fatores ambientais se caracterizam por serem potenciais indutores de doenças mediante a degradação do ecossistema e as mudanças climáticas (BARATA, 2006). Esses fatores, aliados aos agravos dos recursos naturais como contaminação da água, terra, ar e alimentos, juntamente com as atividades do ser humano

determinadas pela industrialização apresentam outras fontes de ameaças para a manutenção da saúde (OMS, 2010).

O presente trabalho foi conduzido no sentido de evidenciar a toxicidade de um dos OF mais amplamente utilizados no cultivo de vários alimentos, o MLT. Para isso, foi conduzido estudo experimental em ratas que simulou o consumo crônico de MLT através da administração oral de doses de 10, 50 e 100 mg/kg do agrotóxico, para observar seus efeitos sobre a função hepática, renal e tireoidiana.

1.2 CONTEXTO INTERDISCIPLINAR DO ESTUDO

Meio ambiente se configura na relação de todos os seres vivos com o ecossistema de forma integrativa como um corpo único, para garantir a manutenção e sobrevivência de ambos, caracterizado por em conjunto de componentes naturais, artificiais e culturais que garantem o desenvolvimento equilibrado da vida em todas as maneiras existentes, segundo Silva (2002).

Para que isso se torne efetivo é necessário que esta interrelação ocorra cada vez mais de forma aprimorada, compreendendo este processo na sua amplitude, inserido em uma realidade complexa tanto biológico como socio-econômico. Uma das medidas importantes para tal é, o uso consciente e sustentável dos recursos naturais se atendo aos limites da exploração destes recursos, que são finitos e dos quais o ser humano depende para garantir sua sobrevivência neste planeta, com qualidade ambiental (MILARÉ, 2005).

Entretanto todos os seres vivos necessitam de fonte de energia para viver, principalmente o homem que precisa cultivar o próprio alimento, porém no intuito de garantir sua subsistência, utiliza de meios e produtos que podem trazer malefícios para si e para o planeta (MOTA, 1997). O FOLTO se destaca como mais um destes contaminantes do meio ambiente com reflexos na saúde de todos os seres vivos, em especial do ser humano, por ser utilizado largamente na produção de alimentos, que podem interferir sobremaneira na condição de saúde pela ingestão destes alimentos contaminados. Saúde está entendida pelo equilíbrio do bem-estar físico, mental e social e não apenas a simples ausência de doença (OMS, 2010).

Assim se faz necessárias ações intersetoriais e interdisciplinares no sentido de criar condições de vida saudáveis para as pessoas, pois a existência do meio ambiente é dependente do ser humano assim como o ser humano é dependente dele (TRAJANO, 2010).

Portanto este estudo veio colaborar na busca de maior entendimento dos possíveis efeitos do resíduo deste OF nos alimentos consumidos diariamente, para a saúde do ser humano e demais seres vivos, além de sua ação sobre o meio ambiente. Contando com a interdisciplinariedade das áreas de química, farmácia, engenharia sanitária e nutrição.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência do organofosforado MLT 500 EC® na função hepática, renal e tireoidiana de ratas com idade de 60 dias, sob o prisma da saúde ambiental.

2.2 Objetivos específicos

- Adaptar o modelo de intoxicação com MLT;
- Dosar o nível sanguíneo de Transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e Transaminase glutâmico pirúvica (TGP) de ratas tratadas com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg via oral;
- Dosar o nível sanguíneo de creatinina e ureia de ratas tratadas com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg via oral;
- Dosar o nível sanguíneo de Tireotrofina (TSH), Triiodotironina (T3) e Tetraiodotironina (T4) de ratas tratadas com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg via oral.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Agrotóxicos

Com o intuito de se proteger de insetos que afetavam o equilíbrio do meio ambiente, e conseqüentemente a saúde e a segurança do homem, os sumérios em 2500 a.C. utilizaram o enxofre, enquanto os chineses no século XIV optaram pelo uso do arsênio. E para tratar sementes e grãos armazenados, eram utilizados compostos a base de ervas, óleos e cinzas; e para combater piolhos e outras pragas, eram usados o mercúrio e o arsênio (BARBOSA, 2004).

Até o período das guerras mundiais, os inseticidas eram derivados apenas de produtos orgânicos usados com a função de proteger os soldados durante a guerra mundial nas regiões tropicais e subtropicais da África e Ásia; dos insetos transmissores da doença do sono e da malária; e dos piolhos que transmitiam a doença chamada tifo exantemático nas tropas norte-americanas. Isso impulsionou pesquisas e estudos sobre a elaboração de novos inseticidas e permitiu a expansão do volume expressivo de agrotóxicos presentes na produção agrícola (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012; BARBOSA, 2004).

As duas grandes guerras ocorridas no século XX, principalmente a segunda guerra mundial, subsidiaram a produção de compostos com a finalidade de serem utilizados como armas químicas que tiveram suas sobras transformadas em agrotóxicos (CARNEIRO *et al.*, 2015). Os produtos mais usados com a função de pesticida, neste período, também no Brasil, foram sais de arsênio, cobre, enxofre e cal (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012).

Por cultivar o seu alimento desde a pré-história, o ser humano teve que conviver e enfrentar problemas relacionados com as pragas que danificavam ou acabavam com as plantas, prejudicando as colheitas e os alimentos armazenados. Dessa forma, os agrotóxicos, também conhecidos como pesticidas, praguicidas ou defensivos agrícolas, passaram a ter importância crucial na agricultura (BOCHNER, 2007).

Conforme o Art. 2º Lei 7.802/89, agrotóxicos e afins são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 2012).

Conforme a Lei Nº 7802, de 11 de julho de 1989, os agrotóxicos são utilizados para preservação dos alimentos desde sua produção até o armazenamento e o beneficiamento. Possuem como finalidade a proteção de pastagens, florestas nativas, flora e fauna. Além da proteção de ambientes urbanos, hídricos e industriais da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 1989).

Contudo, apesar dos riscos que estes produtos podem gerar, o Brasil ainda tem sua agricultura dependente de agrotóxicos, incluindo substâncias abolidas em vários países, como China, Estados Unidos e a União Europeia (BRASIL, 2009).

3.1.1 Classificação dos agrotóxicos

Os agrotóxicos nomeados oficialmente pela legislação são conhecidos por defensivos, pesticidas ou agroquímicos que podem ser classificados em três grandes categorias, segundo a finalidade, para o controle de pragas ou doenças e plantas daninhas ou invasoras (BRASIL, 2012).

Também são classificados em: (1) agrícolas para uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas; nas pastagens e nas florestas plantadas. Seus registros são fornecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, quando atendidas as diretrizes e exigências dos Ministérios da Saúde e do Meio Ambiente; (2) não agrícolas que são direcionados para uso na proteção de florestas nativas, outros ecossistemas ou ambientes hídricos. Seus registros são concedidos pelo Ministério do Meio Ambiente/IBAMA, quando atendidas as diretrizes e

exigências dos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Saúde (BRASILb, 2013).

Dos agrotóxicos considerados não agrícolas temos também os utilizados em ambientes urbanos e industriais, domiciliares, públicos ou coletivos, ao tratamento de água e ao uso em campanhas de saúde pública, cujos registros são concedidos pelo Ministério da Saúde/ANVISA (BRASIL, 2003), atendidas as diretrizes e exigências dos Ministérios da Agricultura e do Meio Ambiente. Estes produtos são classificados segundo o Decreto N° 98.816/90, e a classificação segue de acordo com sua classe toxicológica conforme o Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação dos agrotóxicos em classes por grau de toxicidade (BRASILa, 2010).

Classe	Descrição em função da dose letal mediana (DL₅₀)	Dose considerada letal para o ser humano
1 Extremamente tóxico	≤ 5 mg/kg de peso vivo	Algumas gotas
2 Altamente tóxico	5 a 50 mg/kg de peso vivo	1 colher de chá
3 Moderadamente tóxico	50 a 500/mg kg de peso vivo	1 colher de sopa
4 Pouco tóxico	500 a 5.000 mg/kg de peso vivo	2 colheres de sopa
5 Muito pouco tóxico	5.000 mg/kg de peso vivo	1 copo

No período de 2000 a 2012, foram comercializadas 23 classes de produtos formulados no país, sendo que destes produtos destinados para a agricultura, existem 366 ingredientes ativos pertencentes a 200 grupos químicos distintos apresentados em 1.458 formulações comerciais, sendo 48% de herbicidas, 25% de inseticidas e 22% de fungicidas. Em 2012, foram vendidas 477.792,44 toneladas de agrotóxicos no país. Os dez estados brasileiros que mais comercializaram os produtos agrotóxicos e afins foram São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia e Maranhão (BRASIL, 2013).

3.2 Organofosforados (OF)

Segundo Savoy (2011), os OF são compostos derivados do ácido fosfórico, tiofosfórico ou ditiofosfórico, cuja composição química é caracterizada por enxofre e fósforo (P=S). Podem sofrer bioativação metabólica, tornando-se capazes de apresentar uma toxicidade aguda maior que os organoclorados. Suas aplicações incluem os efeitos acaricida, fungicida, inseticida e nematicida.

A primeira experiência no desenvolvimento dos OF aconteceu na idade média, sendo preparados por alquimistas. A busca do conhecimento mais profundo sobre estes compostos se iniciou no século XIX, por Lassaigne em 1820, com a esterificação do ácido fosfórico, estudo que foi intensificado através de uma investigação mais minuciosa dos compostos de fósforo e produção de uma série de derivados de fosfinas em 1845 (SANTOS *et al.*, 2007).

Também foram produzidos a partir de princípios ativos de substâncias químicas utilizadas na Segunda Guerra Mundial, que foram aproveitadas pelas indústrias químicas (MARASCHI, 2003).

A partir de 1940, passaram a ser utilizados como substitutos de organoclorados e biocidas. Estes são considerados conservantes que impedem o ataque de fungos e bactérias a materiais orgânicos, como papel, madeira e tecidos. Sua aplicação vai desde a agricultura até produtos sanitários, porém o seu uso generalizado tem causado poluição ambiental e risco potencial à saúde humana. Portanto, a intoxicação por OF vem crescendo em número de casos, mesmo a pessoa tendo sido exposta a baixas doses (ARAUJO *et al.*, 2007).

3.2.1 Toxicodinâmica

Os organofosforados podem ser cancerígenos, citotóxicos, genotóxicos, imunotóxicos, mutagênicos e teratogênicos (SSEBUGERE *et al.*, 2010). Os efeitos induzidos pela exposição aos OF em animais e humanos têm sido clinicamente descritos e dependem basicamente de três fatores: tipo de OF,

dose utilizada e duração da exposição (ARAÚJO *et al.*, 2007; LATORRACA *et al.*, 2008).

Essas substâncias químicas apresentam elevado potencial para destruir células musculares e comprometer o sistema nervoso, podendo causar problemas cardiorrespiratórios e outros sinais de aumento de função colinérgica muscarínica (síndrome parassimpaticomimética, muscarínica ou colinérgica), tais como: vômitos, diarreia, cólicas abdominais, broncoespasmo, miose puntiforme e parálitica, bradicardia, hipersecreção (sialorréia, lacrimejamento, broncorréia e sudorese), cefaleia, incontinência urinária e visão borrada. Podem causar também diaforese severa provocando a desidratação e hipovolemia graves, resultando em choque. Também causam sintomas derivados de ativação de receptores nicotínicos (síndrome nicotínica), como: midríase, mialgia, hipertensão arterial sistêmica, fasciculações musculares, tremores e fraqueza. Pode haver paralisia de musculatura respiratória com potencial para fatalidade. Efeitos sobre sistema nervoso central incluem ansiedade, agitação, confusão mental, ataxia, depressão de centros cardiorrespiratórios, convulsões e coma (BRASIL, 2013; BRASIL, 2012; ADAPAR, 2012)

3.2.2 Toxicocinética

Os OF podem ser absorvidos pelas vias de absorção inalatória, por ingestão ou pela pele. São excretados, principalmente, pela urina e em menor quantidade nas fezes (BRASILa, 2009).

3.2.3 Diagnóstico e tratamento de intoxicações por organofosforados

Segundo a Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR, 2012), para diagnosticar uma possível intoxicação por organofosforados, recomenda-se a realização da dosagem de seus metabólitos no sangue. Além disso, o controle de eletrólitos, dosagem de glicemia, creatinina, amilase pancreática, enzimas hepáticas, gasometria, eletrocardiograma (ECG) e observação do prolongamento do intervalo da frequência cardíaca (QT) e RX

de tórax (edema pulmonar e aspiração) são medidas importantes para monitoramento do paciente e do avanço ou regressão da intoxicação.

Para o tratamento, recomenda-se o processo de descontaminação das vestimentas e administração de carvão ativado, nos casos sintomáticos. É importante a adoção de medidas de assistência ventilatória, se necessário, e utilização do antidoto sulfato de atrofina e oximas (reativador das enzimas acetilcolinesterases, que são enzimas que catalisam a hidrólise da acetilcolina, considerado mediador químico necessário para a transmissão do impulso nervoso) (GUILOSKI *et al.*, 2010). O tratamento deve ser realizado de forma precoce, em um período entre 24 e 48 horas, período em que ocorre o envelhecimento da enzima para obter resultado de desintoxicação mais confiável (BRASILa, 2009).

3.3 Organofosforado MLT 500 EC[®]

O organofosforado MLT 500 EC[®] é um inseticida apresentado sob a forma de concentrado emulsionável. Em concentração pura, é um líquido amarelado; e na forma comercial (técnica) contém de 95% a 98% de substância, tornando-se um líquido marrom-escuro com forte cheiro de alho, com baixa solubilidade em água, sendo mais facilmente solúvel na maioria dos solventes orgânicos, como o álcool, cetona, éter, éster, hidrocarbonos aromáticos e óleos vegetais.

Decompõe-se facilmente em meio alcalino e em meio ácido, e possui taxa de hidrólise (meia-vida) em pH 7,4 e em temperatura de 37,5°C, em aproximadamente 32 horas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003; ADAPAR, 2012).

O MLT pode ser encontrado no mercado na forma de líquidos oleosos, viscosos, pouco densos, com cor e cheiro variados. Assim como, na forma de sólidos ou pós-cristalinos incolores ou coloridos. As formulações e concentrações variam conforme a utilização a que se destina que pode ser inseticidas, fito e zoonos sanitários (BRASILb, 2010).

Este OF tem seu registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA N^o 00439004) e no Ministério da Saúde (M.S N^o

3.2781.0019) para posterior comercialização. A sua composição química se apresenta como dietil (dimetoxitiofosforiltio) succinate (MALATIONA) 500 g/L (50 % m/v). É composto por Dimetilbenzeno (XILENO – solvente) 431 g/L (43,1% m/v), com ingredientes inertes (97 g/L (9,7 % m/v), sua estrutura química está apresentada na Figura 1.

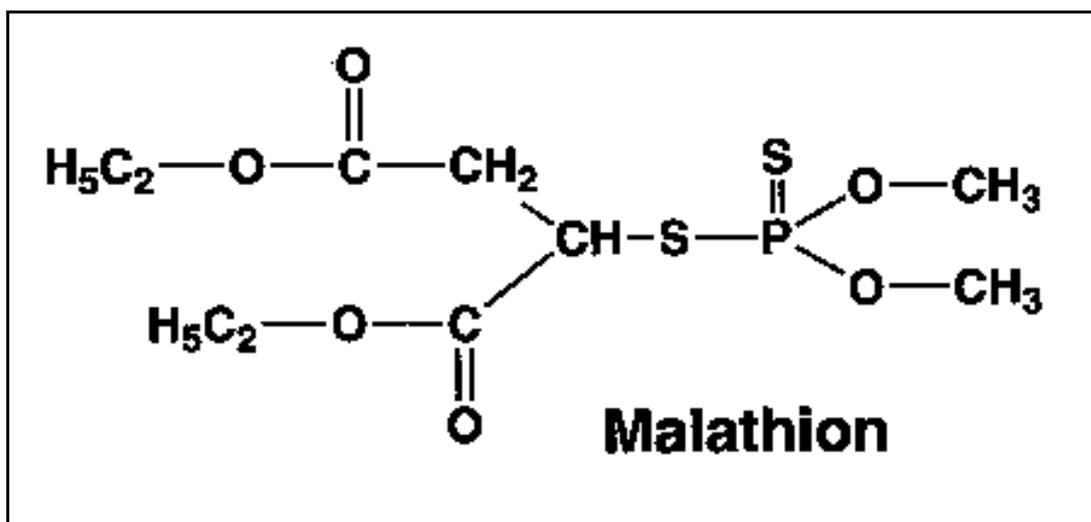


Figura 1 - Estrutura química do Malathion.

(ADAPAR, 2012)

O MLT é considerado extremamente tóxico para o ser humano (classificação toxicológica II) e é muito perigoso para o meio ambiente. Seu efeito sobre o meio ambiente é caracterizado por alta toxicidade para peixes, organismos aquáticos e abelhas (ADAPAR, 2012).

3.3.1 Aplicação

O MLT é aplicado em diversas culturas agrícolas, tais como, aplicação foliar nas culturas de alface, algodão, berinjela, brócolis, cacau, café, frutas cítricas, couve, couve-flor, feijão, maçã, morango, orquídeas, pastagens, pepino, pera, pêssego, repolho, rosa, soja e tomate. Também é usado para matar insetos em culturas agrícolas e jardins, tratar piolhos em humanos e pulgas em animais de estimação, em diferentes concentrações. O MLT 500 EC CHEMINOVA, sob a forma de concentrado emulsionável, é indicado para o

controle das seguintes pragas: no citros para a mosca-das-frutas (*Anastrepha fraterculus*), no tomate para o pulgão-verde (*Myzus persicae*) e para a broca pequena-do-fruto (*Neoleucinodes elegantalis*) (ADAPAR, 2012).

Além dessas aplicações, o Ministério da Saúde vem utilizando atualmente o MLT EA 44%, uma emulsão estável em água, para o controle do mosquito *Aedes aegypti* em áreas onde o vetor é resistente a piretróides (ANDRIGHETTI *et al.*, 2013).

Apesar da reconhecida descrição de risco, a comercialização do MLT[®] no Brasil e sua utilização feita de forma descontrolada e sem proteção contribuem para que este agrotóxico seja um dos mais presentes nas intoxicações notificadas (DELGADO *et al.*, 2006).

De acordo com a Lei Federal Nº 7802/89, o MLT pode ser comercializado por estabelecimentos devidamente cadastrados em órgãos competentes do Estado, de acordo com a Lei Estadual Nº 11069/98, ou municípios que possuem atuação mais intensa na área da saúde, do meio ambiente e da agricultura. A venda só poderá ser realizada mediante a apresentação de receituário agrônomo prescrito por profissional legalmente habilitado. Por outro lado, este inseticida para uso domissanitário ou para fins de jardinagem amadora, segundo as Portarias MS Nº 321/97 e Nº 322/97, poderá ser realizado através de venda direta ao consumidor, sem a apresentação de receituário agrônomo, tendo como critério que os frascos devem possuir um volume que não exceda 100 mL a ser diluído e de 1000 mL para líquidos prontos para o uso (POSSAMAI *et al.*, 2007).

3.3.2 Toxicodinâmica

O MLT age como potencial e permanente inibidor da colinesterase, impedindo a atuação desta enzima sobre a acetilcolina, causando acúmulo de acetilcolina e superestimulação das terminações nervosas que atuam nas células musculares, glandulares, ganglionares e do sistema nervoso central (SNC) (BRASILb, 2009).

Também possui relação com possíveis efeitos imunossupressores em diversos níveis, podendo causar alterações fisiopatológicas e interferir no

estado nutricional, na função hormonal, no metabolismo hepático e em outros mecanismos imunorregulatórios, diretamente ou indiretamente sobre células linfoides. Além disso, pode interferir no metabolismo das imunoglobulinas, células T, macrófagos e na biossíntese macromolecular (BANERJEE *et al.*, 1999).

3.3.3 Toxicocinética

A absorção do MLT ocorre pela via trato gastrointestinal e, em menor extensão, pelas vias dérmicas e inalatória. Os resíduos são metabolizados e eliminados rapidamente através da urina e fezes. O MLT é distribuído por todos os tecidos do organismo, após sua absorção, acumulando altas concentrações no fígado, onde é metabolizado e rins, que o excretam. Os efeitos podem ocorrer minutos ou horas após a exposição (ADAPAR, 2012).

A excreção no ser humano ocorre principalmente pela via urinária, em menor quantidade pelas fezes. A excreção máxima ocorre em dois dias, após diminuir rapidamente. Em ratos, a principal via de excreção também ocorre através da urina (80% a 90%), nas primeiras 24 horas após a exposição. Os ratos convertem cerca de 4% a 6% do MLT em Malaoxon. O tempo de meia-vida do MLT, em ratos, é 1,4 dias no sangue quando administrado por via oral. Em humanos A meia-vida deste organofosforado varia muito, dependendo da natureza do composto, pois alguns metabólitos são mais tóxicos que a substância que os originou (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003).

3.3.4 Manifestações clínicas de intoxicação por MLT

Os efeitos causados pelo MLT podem ocorrer minutos ou horas após a exposição, de forma leve, moderada ou grave, dependendo da concentração do produto absorvido, do tempo de absorção, da toxicidade do produto e do tempo decorrido entre a exposição e o tratamento (ADAPAR, 2012).

O MLT pode provocar náusea, vômito, diarreia, salivação e sudorese excessiva. Em casos mais graves, pode causar bradicardia, miose, secreção pulmonar aumentada, incoordenação muscular, fasciculações, contrações

musculares, depressão do SNC, crises convulsivas generalizadas, coma e óbito (ANDEF, 2015). De acordo com estudos de Santos (2013), em que ratos foram expostos por 15 dias ao MLT, observou-se aumento da expressão de proteínas pró-apotóticas, sugerindo potencial citotóxico mesmo em baixas doses (30 mg/kg).

3.3.5 Limite máximo de resíduos (LMR) para MLT

Quando se trata de uso não alimentar, o LMR para farinha de trigo é de 2 mg/kg; para uso alimentar, o LMR do tomate é de 3 mg/kg. A IDA é de 0,3 mg/kg para ser humano, sua dose letal oral mediana (DL50) para ratos é de 2000 mg/kg e a dérmica é acima de 4000 mg/kg (BRASILa, 2009).

3.4 Contaminação do meio ambiente

O meio ambiente tem sido influenciado pelo crescente surgimento da agricultura químico-industrial, responsável principalmente pela contaminação de alimentos, seguido da poluição de rios e do solo. As erosões e a desertificação, associadas à intoxicação e morte de animais, além da extinção de espécies, evidenciam o desequilíbrio que o uso inadequado de agrotóxicos causa, não apenas aos seres humanos, mas para todo o meio ambiente (ARAÚJO *et al.*, 2007).

O meio ambiente saudável e ecologicamente equilibrado é direito de todos, como bem de uso comum, e essencial para a boa qualidade de vida, sendo responsabilidade do Poder Público e da Comunidade que têm o dever de defendê-lo, conservá-lo e preservá-lo para as futuras gerações (DUARTE, 2007).

A produção de alimentos através da agricultura praticada atualmente se apresenta como motivadora de insustentabilidade ambiental, devido o uso de forma indiscriminada e sem controle dos inseticidas pelos agricultores, acarretando danos imediatos e tardios ao meio ambiente e à saúde humana, tornando-se urgente a busca de medidas para minimizá-los (PIGNATI, MACHADO & CABRAL, 2007).

A prática da agricultura estampa atualmente uma realidade preocupante no país, devido à dependência de defensivos e demais produtos afins para manutenção da plantação, constituindo poluidores potenciais do meio ambiente (CAMPOS, 2008).

Outro grande prejuízo ao meio ambiente é a contaminação do sistema hídrico, gerando mudanças significativas no ecossistema que refletem diretamente sobre a manutenção da saúde dos seres vivos, pois independente da forma como são aplicados na lavoura, esses produtos têm como destino final o solo, carregados pela ação das chuvas ou da água de irrigação (SCORZA JUNIOR, NÉVOLA & AYELO, 2010).

3.4.1 Contaminação da água e ambiente aquático

As principais fontes de poluição hídrica, por sua vez, são os esgotos domésticos, efluentes industriais, agrotóxicos, detergentes sintéticos, mineração, poluição térmica e outros focos não específicos. Os agrotóxicos são classificados como os de maior gravidade que contaminam a água, o ar e o solo. A referida poluição química do solo pode ser vista como resultado dos processos agrícolas que fazem uso dos agrotóxicos, poluindo o ambiente e causando sérios riscos à saúde dos seres humanos e demais formas de vida (STRACCI, 2014).

De acordo com o Atlas de Saneamento e Saúde do IBGE, lançado em 2011, com base na declaração dos municípios sobre poluição e contaminação, junto com o esgoto sanitário, os resíduos de agrotóxicos e a destinação inadequada do lixo foram relatados como responsáveis por 72% dos causadores de poluição na captação da água de mananciais superficiais, 54% em poços profundos e 60% em poços rasos (CARNEIRO *et al.*, 2015).

3.4.2 Contaminação e resíduos em alimentos

Segundo o Instituto Brasileiro de geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira é composta por 204.101.219 habitantes, porém seu crescimento ainda ocorre de forma desigual em todo o território, sendo a maior

concentração nas regiões norte e centro-oeste. Este fato traz à tona uma preocupação com o descompasso do saneamento básico entre os estados brasileiros (BRASIL^(b), 2010). Segundo a OMS (2010), 24% das doenças no mundo estão relacionadas ao ambiente em que a pessoa vive, assim, a promoção de um meio pouco contaminado é essencial para minimizar a incidência dessas doenças.

O Ministério da Saúde adverte que os agrotóxicos estão em segundo lugar como os maiores causadores de intoxicação no Brasil. Existem cerca de 200 tipos de agrotóxicos diferentes e o Brasil é um dos principais consumidores. Aliás, muitos desses compostos são proibidos em outros países, mas no Brasil são utilizados em larga escala sem a preocupação em relação aos danos que podem causar (BRASIL, 2012).

Segundo Carneiro *et al.* (2015), o consumo médio de agrotóxicos no Brasil é de 12 litros/hectare e a exposição média ambiental/ocupacional/alimentar é de 7,5 litros de agrotóxicos por habitante, conforme cita o dossiê elaborado pela Associação Brasileira de Saúde Coletiva (2012).

Devido à ação residual de agrotóxicos nos alimentos cultivados na lavoura convencional, aplicados durante o plantio, cultivo e colheita, observam-se diversos agravos para a saúde humana. Apesar de estabelecida a IDA de agrotóxicos nos alimentos, com o intuito de garantir a segurança alimentar da população, o ser humano ainda está exposto ao uso combinado de vários produtos desta natureza, muitas vezes não indicados para determinado tipo de plantação ou que estão em reavaliação para descontinuação programada do seu uso, devido à sua alta toxicidade (ABRASCO, 2012)

Ainda, segundo a União Europeia, alguns agrotóxicos atuam como interferentes endócrinos, podendo danificar diretamente um órgão endócrino ou alterar a sua função, interagir com um receptor de hormônios ou alterar o metabolismo de um hormônio (SINGH *et al.*, 2010).

3.5 LMR dos resíduos de agrotóxicos nos alimentos

Frente ao avanço no uso dos agrotóxicos, torna-se necessário monitorar e controlar o nível de resíduos de agrotóxicos contidos nos alimentos consumidos pelo ser humano. Para isso, foi criado em 1963, o órgão internacional com o intuito de desenvolver normas no âmbito do programa da OMS para alimentação e agricultura (FAO/OMS), cuja missão foi estabelecer limites máximos de resíduos (LMR) com valor expresso em miligramas de defensivo ou afins de seus resíduos por quilo do alimento analisado (mg/Kg). Foi incumbido de gerar as listas prioritárias de pesticidas que deveriam ser avaliados/reavaliados pelo *JOINTs FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues* (JMPR - grupo FAO/OMS de peritos sobre resíduos de pesticidas, que prestam aconselhamento científico ao Comitê sobre Resíduos de Pesticidas). Além de priorizar métodos de amostragem e análise para a determinação de resíduos de pesticidas (CODEX ALIMENTARIUS, 2015).

Para acompanhar este processo, em 1980, no Brasil, foi criado o Comitê do Codex Alimentarius do Brasil (CCAB), composto por 14 membros, incluindo órgãos do governo, indústrias e órgãos de defesa do consumidor, sob a coordenação em parceria com a Secretaria Executiva do Inmetro, cuja função é representar o País nos Comitês do Codex, visando garantir o LMR em alimentos e promover a segurança do consumidor e a regulamentação do comércio externo (JARDIM & ANDRADE, 2009; CODEX ALIMENTARIUS, 2015).

Seguindo esta linha, em 2001, a ANVISA criou o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) com a finalidade de avaliar a qualidade dos alimentos consumidos pela população brasileira em relação ao uso de agrotóxicos. Esse programa visa prevenir intoxicações agudas ou crônicas resultantes da exposição dietética indevida dos agrotóxicos, assim como, estimar a exposição da população aos resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal e, conseqüentemente, avaliar o risco à saúde dessa exposição (BRASIL, 2012).

Além disso, este programa busca contribuir para a segurança alimentar, por meio da avaliação do LMR, definido a partir de 2007. Nos alimentos

comercializados no varejo, visa verificar se os agrotóxicos utilizados estão devidamente registrados no país e se foram aplicados somente nas culturas para as quais estão autorizados (BRASILa, 2013).

Para a manutenção deste controle, é realizada a coleta de amostras de alimentos pelas vigilâncias sanitárias estaduais e municipais em supermercados, que são encaminhados para laboratórios credenciados e especializados, para verificar a quantidade de resíduos de agrotóxicos em cada uma das amostras coletadas pelo método analítico de "multirresíduos" ou metodologias específicas previamente validadas, propondo assim realizar análise simultânea de diferentes ingredientes ativos de agrotóxicos em uma mesma amostra (BRASILa, 2009).

3.6 Forma de avaliação do LMR para seres humanos e animais

Para avaliar a exposição da população às substâncias químicas potencialmente tóxicas, avalia-se individualmente o consumo de um alimento. Para verificar a quantidade ingerida de resíduos destas substâncias, deve ser estabelecida a relação consumo/peso corpóreo para cada indivíduo (FAO, 2013).

Com a finalidade de avaliar o impacto da exposição, antes de autorizar o uso de um ingrediente ativo para uma cultura agrícola, a ANVISA executa o cálculo da Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) definida pelo quociente: somatório dos produtos do consumo médio per capita diário de cada alimento e o respectivo LMR dividido pelo peso corpóreo (BRASIL, 2014).

$$\text{IDMT} = \frac{\text{Soma (LMR X Consumo do alimento)}}{\text{Peso corpóreo}}$$

Os LMR estabelecidos para um agrotóxico nas várias culturas são considerados seguros para a saúde do consumidor quando a Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) não ultrapassa a IDA (BRASIL, 2014).

A exposição crônica a substâncias químicas na dieta ocorre diariamente, por um longo período. O cálculo da IDA, em mg/kg de peso corpóreo/dia, de uma determinada substância é dada por:

$$\text{Exposição} = \frac{\text{Concentração da substância X consumo do alimento}}{\text{Peso Corpóreo}}$$

Para o cálculo, são utilizados valores médios desses parâmetros, pois refletem melhor as variações de exposição que podem ocorrer durante um longo período (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Testes *in vivo* são utilizados com o propósito de realizar triagem e classificar as substâncias presentes nos alimentos, de acordo com sua toxicidade. Constituem a principal forma de informação e caracterização de danos à saúde do ser humano. Estes testes são realizados tendo como base a IDA definida para animais, porém o ser humano pode ser 10 vezes mais sensível. Sendo assim, o valor danoso ao ser humano do composto químico testado poderá ser 10 vezes maior que para o animal testado (FAO, 2013).

Entretanto, a contaminação dos alimentos e a quantidade de resíduos remanescentes até a hora do consumo pode ser alterado através da preparação caseira ou comercial dos alimentos após um procedimento de preparo, como lavar, descascar ou cozinhar (ARAUJO *et al.*, 2007).

Apenas o Brasil dispõe de legislação específica no campo da segurança alimentar e direito à alimentação (FAO, 2013). Trata-se da Lei Orgânica de Segurança Alimentar e Nutricional (LOSAN, Lei Nº 11.346, de 15 de setembro de 2006) que versa sobre uma concepção abrangente e intersetorial da Segurança Alimentar e Nutricional. Porém, ainda convivemos com uma realidade de insegurança alimentar, em que o país mantém o quinto lugar em consumo de inseticidas e o terceiro em produção e consumo de agrotóxicos em relação ao mundo, de acordo com a Associação Nacional de Defensivos Agrícolas, expondo os alimentos à contaminação desde a produção, processamento, armazenamento e até embalagem (ANDEF, 2015).

3.7 Sistema endócrino

O sistema endócrino influencia a atividade metabólica através dos hormônios secretados que atuam como mensageiros químicos em todos os órgãos, no sentido de promover e regular o crescimento, o funcionamento de vários órgãos, manter a homeostase do metabolismo e determinar as características sexuais masculinas e femininas, por exemplo. Os hormônios produzidos pelas glândulas endócrinas têm como destino a corrente sanguínea até atingir os sistemas alvo, além de interagir harmoniosamente com o sistema nervoso na coordenação e regulação das funções metabólicas. Os principais órgãos que secretam hormônios são hipófise, hipotálamo, tireoide, paratireoides, suprarrenais e o pâncreas (MCANDREWS& WU, 2013).

A atividade do sistema endócrino é regulada por mecanismo de *feedback* ou retrocontrole. Denomina-se *feedback* negativo quando a concentração do hormônio secretado atinge uma concentração acima do necessário, mediando sinalização inibidora da secreção deste hormônio e a consequente interrupção deste circuito de ação. É considerado *feedback* positivo quando a concentração do hormônio está baixa e sinaliza a necessidade da glândula secretá-lo para que a atividade fisiológica possa ser estimulada (GUYTON & HALL, 2012). Sob este controle, o sistema endócrino mantém em equilíbrio a ação das principais glândulas demonstradas na Figura 2.

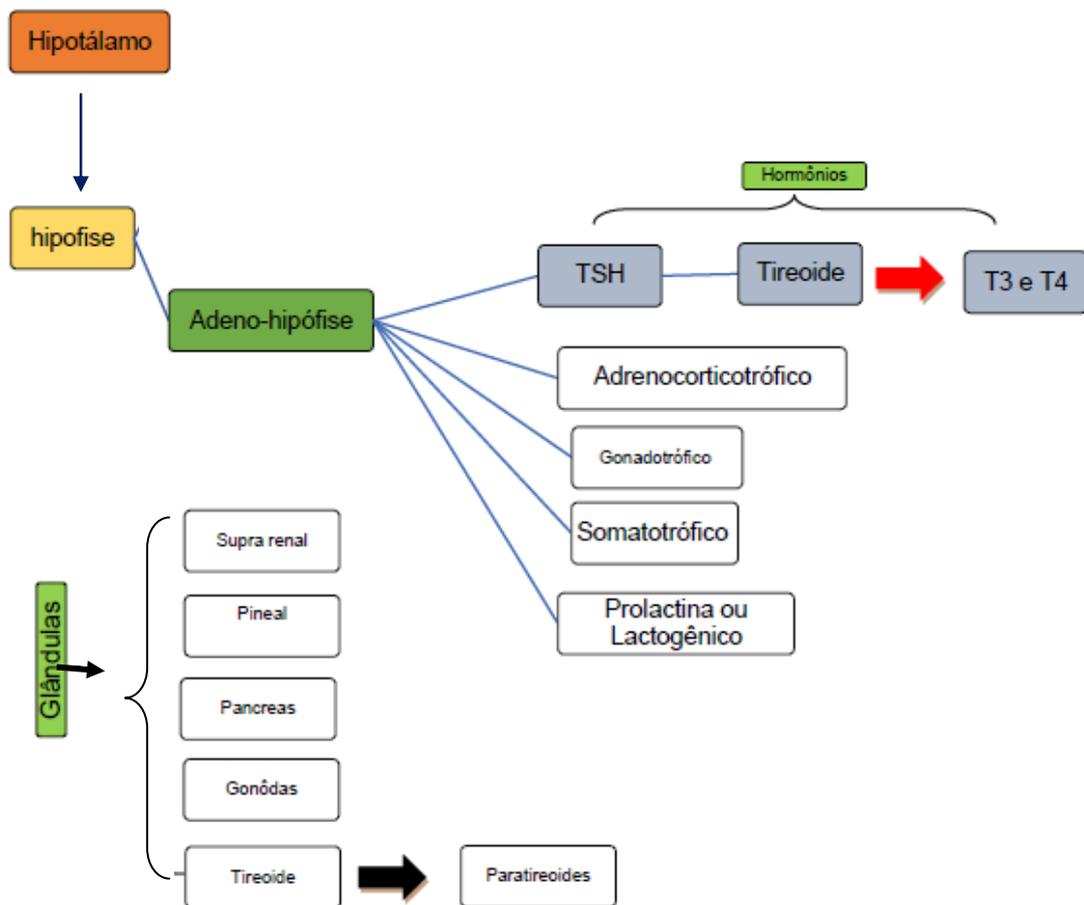


Figura 2 - Esquema do funcionamento do sistema endócrino.

(adaptado de Guyton & Hall, 2012)

3.7.1 Função das glândulas endócrinas

A função das glândulas endócrinas é secretar os hormônios importantes para a homeostase do metabolismo. Destas, a glândula pineal secreta a melatonina, hormônio responsável pela regulação dos ritmos corporais (ciclo circadiano), relógio biológico e o sono (GUYTON & HALL, 2012). A glândula suprarrenal realiza a secreção do hormônio cortisol, que tem ação oposta a da insulina e semelhante a do glucagon sobre a glicemia, sendo responsável pela gliconeogênese hepática, lipólise no tecido adiposo e degradação proteica no músculo para geração de energia para atender as necessidades do cérebro. Além disso, modula a formação de novas estruturas ósseas e possui ampla influência

sobre o sistema imune, atuando como imunossupressor (WIDMAIER, RAFF & STRANG, 2013).

Também controlado pela glândula suprarrenal, o hormônio esteroidal aldosterona assegura a manutenção dos níveis de sódio e potássio na urina e no sangue, sendo um dos principais hormônios responsáveis pelo controle da pressão arterial. A adrenalina é outro hormônio importante da suprarrenal, devido à sua ação promotora de aporte de sangue para os músculos, a manutenção da frequência cardíaca e da pressão arterial dentro dos valores adequados, tanto em repouso como em condições de estresse. Também pode estimular a secreção de insulina, glucagon, gastrina, dentre outros (PRADO, RAMOS & RIBEIRO DO VALLE, 2007).

Para controle direto do metabolismo e síntese de proteínas, os hormônios T3 e T4 são secretados pela glândula tireoide sob estímulo do hormônio TSH advindo da hipófise anterior. Outra glândula, a paratireoide, produz o paratormônio que controla os níveis de cálcio no sangue por meio de influência sobre a absorção intestinal, eliminação renal de cálcio e sua transferência dos ossos para o sangue (MCANDREWS & WU, 2013).

O pâncreas é uma glândula mista com funções endócrinas e exócrinas. As células α pancreáticas secretam glucagon e as células β secretam insulina. Existem também as gônadas, responsáveis pela secreção de hormônios sexuais, que regulam o ciclo reprodutivo, o comportamento sexual e a fertilidade. O hormônio testosterona é secretado pelos testículos, enquanto estrogênio e progesterona são secretados pelos ovários (WIDMAIER, RAFF & STRANG, 2013).

3.7.2 Eixo Endócrino Hipotalâmico-Hipofisário

O hipotálamo regula a liberação dos hormônios secretados pela hipófise, e atua como facilitador da comunicação entre os sistemas nervoso e endócrino, promovendo a regulação da temperatura corpórea, do apetite, da atividade gastrintestinal, do nível de eletrólitos, da pressão arterial, dos hormônios sexuais, do funcionamento cardiovascular, do crescimento e desenvolvimento, das emoções e do sono. (DAVIES, BLAKLELEY & KIDD, 2002).

O hipotálamo e a hipófise possuem relação com a integração estrutural e funcional entre os sistemas nervoso e endócrino. O hipotálamo ocupa apenas

2% do volume do encéfalo, enquanto a hipófise é um pequeno órgão que pesa aproximadamente 0,5 g e localiza-se na sela túrcica do osso esfenóide. A hipófise se liga por um pedúnculo ao hipotálamo na base do cérebro, e guarda importantes relações anatômicas e funcionais. Pode ser dividida em lobo anterior e lobo posterior, sendo a hipófise anterior responsável pela secreção de seis hormônios, são eles: hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), hormônio tireoestimulante (TSH), hormônio de crescimento (GH), hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio luteinizante (LH) e prolactina. Também produz os hormônios oxitocina e antidiurético, que são armazenados e liberados pela hipófise posterior (FOX, 2007; GUYTON & HALL 2012).

3.7.3 Glândula tireoide

A tireoide é a primeira glândula endócrina que surge no embrião. Segundo Guyton & Hall (2012), esta glândula é um órgão com peso máximo de 20g que contém dois lobos conectados por um istmo. Está localizada no pescoço anterior, ao nível das vértebras C5 até T1, em frente à traqueia, e inferior à laringe, entre a cartilagem cricóide e a incisura supra esternal. É altamente vascularizada e de consistência macia, conforme mostra a Figura 3. A glândula tireoide é controlada pela atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide.

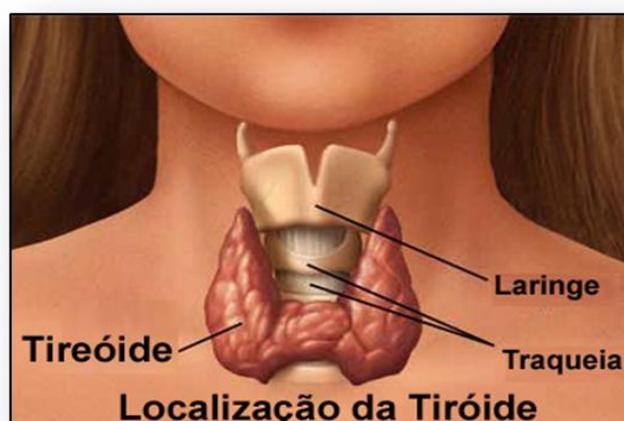


Figura 3 - Localização da glândula tireoide.

(Google Imagens, 2015)

A tireoide mantém o equilíbrio do metabolismo através da produção, armazenamento e secreção dos hormônios T3 e T4, conforme ilustra a Figura 4. Para que este processo aconteça, o hipotálamo promove a liberação do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) que, ao penetrar na adeno-hipófise, estimula as células basófilas a liberar o hormônio TSH, cuja função é estimular as células que compõem os folículos colóides dentro da glândula tireoide. O TSH é secretado pela hipófise anterior e controla a secreção da glândula tireoide. Quando a hipófise anterior para de secretar este hormônio, gera dificuldade expressiva na tireoide chegando a incapacitá-la de secretar qualquer hormônio (OLIVEIRA & MALDONADO, 2014; MCANDREWS & WU, 2013).

O processo para equilíbrio da produção dos hormônios T3 e T4 ocorre por *feedback* negativo, o qual se configura na absorção do iodo, fundamental na quantidade de 100 a 150 µg/dia, consumido nos alimentos e transportado para a tireoide, onde sofre oxidação pela peroxidase e é incorporado às moléculas de tireoglobulina para constituir os hormônios T3 e T4, conforme figura 4 (GUYTON & HALL, 2012).

O hormônio T3 livre é metabolicamente mais ativo e possui atividade biológica 4 vezes superior à do T4. A tireoide também tem importante papel de metabolizar a calcitonina, que junto com T3 e T4, é essencial para a regulação da expressão gênica, diferenciação celular, regulação do metabolismo energético e do metabolismo do cálcio. Os hormônios T3 e T4 são estimulados pelo TSH que é secretado pela adenohipófise (PRADO, RAMOS & RIBEIRO DO VALLE, 2007).

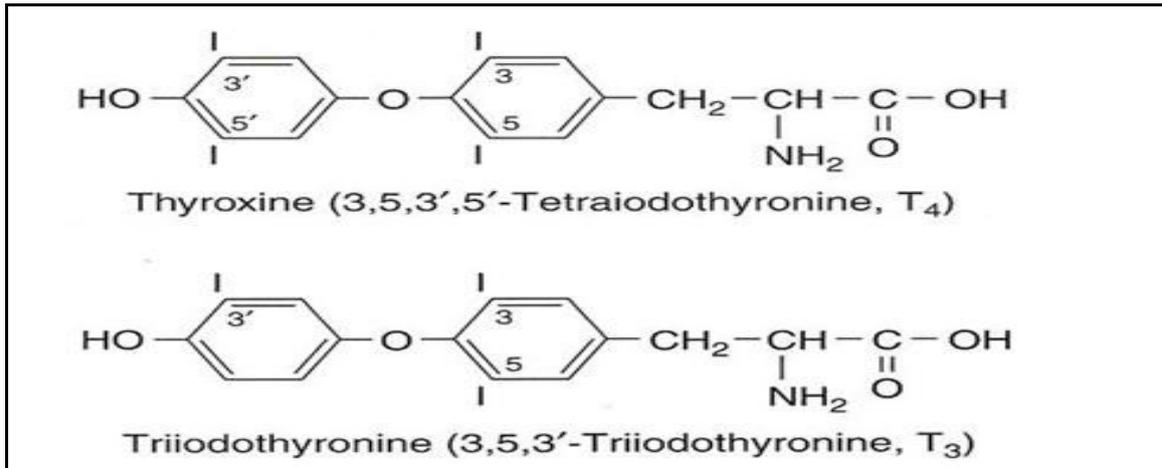


Figura 4 - Estrutura química dos hormônios T₃ e T₄.
(PRADO, RAMOS & RIBEIRO DO VALLE, 2007)

3.7.3.1 Função da tireoide

A tireoide é um órgão de suma importância, pois tem influencia no funcionamento de todas as vias metabólicas. Seus principais efeitos são: proliferação e diferenciação celular, crescimento dos tecidos através do estímulo da síntese proteica. Além disso, participa da glicogenólise, processo de degradação do glicogênio hepático em glicose no fígado, sendo primordial para o metabolismo dos carboidratos. Sua atividade também favorece maior mobilização e oxidação de lipídios do tecido adiposo, promovendo a redução dos níveis plasmáticos de colesterol. Participa também do desenvolvimento normal das gônadas, regulação da temperatura corporal e da frequência cardíaca (OLIVEIRA & MALDONADO, 2014).

3.7.3.2 Alterações da tireoide

Os desequilíbrios no funcionamento da tireoide compreendem o hiper e o hipotireoidismo. Na primeira condição, a ação da tireoide é alterada através de estimulação excessiva do eixo hipotálamo-hipófise por causas diversas, expressão de anticorpos anti-receptores de TSH, e o excesso de função da glândula pode levar a aumento no tamanho da tireoide com o surgimento de nódulos, tumores benignos ou não, além de bócio tóxico ou exoftalmia. A segunda condição (hipotireoidismo) acontece devido a falta de T₃ e T₄, atrofia

da tireoide ou ablação completa da mesma (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

3.7.4 Hipertireoidismo

3.7.4.1 Fisiopatologia do hipertireoidismo

O hipertireoidismo ocorre pelo aumento da produção e liberação de hormônios tireoidianos pela tireoide. Esta condição é caracterizada por tireotoxicose ou excesso de hormônios circulantes, ocorrendo o aumento do T3 com supressão do TSH, demonstrado por quadros de hiperplasia difusa da tireoide (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

Quando associada à doença de Graves, manifesta-se pela infiltração linfocitária da glândula tireoide, ativação do sistema imune com elevação dos linfócitos T circulantes e aparecimento de anticorpos que se ligam ao receptor do hormônio TSH e estimulam o crescimento e a função glandular, podendo causar bócio multinodular hiperfuncionante e adenoma hiperfuncional da tireoide, além da tireoidite que ocorre pela ingestão excessiva de hormônio tireoidiano (GUYTON & HALL, 2012).

Entre as manifestações patológicas, destacam-se alterações cardíacas, neuromusculares e oculares, intensificação da taxa metabólica basal, osteoporose e peristaltismo. Portanto, é uma patologia classificada como grave por alterar de forma significativa a qualidade de vida, e por seu tratamento exigir acompanhamento constante com investimento que pode gerar impacto significativo principalmente na vida das pessoas em vulnerabilidade social (BAHN *et al.*, 2011; OLIVEIRA & MALDONADO, 2014).

3.7.4.2 Incidência do hipertireoidismo

A incidência média de hipertireoidismo é de 8 casos a cada 1000 pessoas/ano, sendo 2% a 3% em mulheres e 0,2% em homens. Entre 60% e 80% dos casos, a doença de Graves ou o bócio difuso tóxico são a principal

causa de hipertireoidismo em mulheres na faixa etária ente 40 e 60 anos de idade. Apresenta-se como uma disfunção autoimune causada pela existência de anticorpos IgG estimuladores do receptor de TSH, que mimetizam o efeito da tireotrofina produzida pela hipófise, estimulando o aumento de volume e a função da tireoide (LOPES, 2007). O hipertireoidismo subclínico, condição apresentada em 0,3% a 1% da população, geralmente ocorre em 2% dos idosos, e pode ser a fase inicial do hipertireoidismo (BAHN *et al.*, 2011).

3.7.4.3 Classificação do hipertireoidismo

O hipertireoidismo pode ser classificado como hipertireoidismo subclínico primário que apresenta alterações dos hormônios tireoidianos com aumento dos valores de TSH e manutenção dos valores de T4 em níveis normais, sem manifestações clínicas pelo paciente. No hipertireoidismo secundário, os hormônios tireoidianos e o TSH estão em níveis normais, enquanto o T4 está diminuído. A tireotoxicose por T3 decorre do aumento isolado dos níveis séricos de T3 e supressão do TSH para valores inferiores a 0,1 mUI/L. Enquanto no hipertireoidismo franco, os níveis séricos de T3 e T4 estão aumentados e o TSH está indetectável (BRENTA *et al.*, 2013; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

3.7.4.4 Sinais e sintomas clínicos do hipertireoidismo

O paciente portador de hipertireoidismo caracteriza-se por apresentar aumento da temperatura corporal, intolerância ao calor, hiperidrose, palpitações, fraqueza muscular, dificuldade respiratória, taquicardia e fibrilação atrial, nervosismo, tireomegalia, perda de peso, taquipnéia, rouquidão, tremores, onicólise, alterações do ciclo menstrual, alopecia, cabelos finos e brilhantes, disfagia, oligomenorréia, conforme mostra a Figura 5 que destaca o percentual das manifestações clínicas.

Sintomas	%	Sinais	%
Nervosismo	99	Taquicardia	100
Sudorese excessiva	91	Bócio	97
Intolerância ao calor	89	Tremor	97
Palpitação	89	Pele quente e úmida	90
Fadiga	88	Sopro na tireoide	77
Perda de peso	85	Alterações oculares	71
Dispneia	75	Fibrilação atrial	10
Fraqueza	70	Ginecomastia	10
Aumento do apetite	65	Eritema palmar	8
Edema de membros inferiores	35	Distúrbios menstruais	20
Diarréia	23	Hiperdefecação	33
Ganho de peso ponderal	2	Anorexia	9

Figura 5 - Percentual das manifestações clínicas do hipertireoidismo.

(MAIA *et al.*, 2013).

A doença de Graves é caracterizada principalmente pelo aumento da reabsorção óssea, elevação da excreção de cálcio e fósforo na urina e nas fezes, causando diminuição da densidade mineral óssea e aumento do risco de fraturas em mulheres idosas, doenças cerebrovasculares, cardiovasculares e fraturas do colo do fêmur. Pacientes com hipertireoidismo apresentam maior risco de mortalidade (NEVES *et al.*, 2008; MAIA *et al.*, 2013).

3.7.4.5 Tratamento do hipertireoidismo

Para o tratamento do hipertireoidismo são utilizadas drogas antitireoidianas, cirurgia de remoção da glândula ou destruição desta com radioisótopo Iodo 131. A escolha do tratamento dependerá do consenso entre o médico e o paciente, da idade do paciente, do volume da tireoide, da severidade da doença e dos recursos disponíveis (LOPES, 2007).

Em relação aos efeitos colaterais das drogas antitireoidianas, devido a utilização em longo prazo, alguns podem ser significativos, como hepatite tóxica e agranulocitose (diminuição ou desaparecimento de leucócitos responsáveis pelo sistema de defesa). Outro fator importante é o abandono do tratamento, que gira em torno de 40% a 80%, diminuindo substancialmente o resultado do tratamento (ARAUJO *et al.*, 2007).

O maior desafio da área médica para tratar a doença de Graves, causa principal do hipertireoidismo, considera o risco de complicações cirúrgicas e de morte durante procedimento cirúrgico, lesão nos nervos da laringe ou glândulas paratireoides, hipotireoidismo, recorrência ou persistência da doença, infecções, sangramentos e lesões nos vasos cervicais. Entretanto, o método mais barato, utilizado há 60 anos, é o radioisótopo Iodo 131 que pode gerar uma tireoidite intensa secundária por progressiva fibrose intersticial e atrofia glandular, culminando na incapacidade definitiva da produção de hormônios pela glândula tireoide (ARAUJO *et al.*, 2007; SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

3.7.5 Hipotireoidismo

3.7.5.1 Fisiopatologia do hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma condição clínica caracterizada pela quantidade insuficiente ou ausente dos hormônios T3 e T4, que compromete o metabolismo de forma intensa e prejudica a manutenção das funções orgânicas (MULLER *et al.*, 2008).

Os níveis reduzidos dos hormônios tireoidianos podem advir de uma doença na própria glândula (hipotireoidismo primário), assim como, podem ser causados por doenças hipofisárias (hipotireoidismo secundário) ou hipotalâmicas (hipotireoidismo terciário) (REID & WHEELER, 2005).

3.7.5.2 Incidência do hipotireoidismo

As doenças da tireoide afetam um em cada 200 adultos. A incidência do hipotireoidismo é de 0,3 a 5 casos por 1000 habitantes/ano. A prevalência da doença atinge de 10% a 15% da população brasileira, sendo de 9,4% entre 35 e 44 anos e de 19,1% acima dos 75 anos, e geralmente acomete mulheres após a menopausa e idosos (ROBERTES & LADENSON, 2004; SILVA, 2011).

Dentre os vários tipos de hipotireoidismo, a doença de Hashimoto é a mais prevalente, com maior incidência na raça branca e acima dos 50 anos de idade. Nódulos na tireoide são encontrados em 4% a 8% de todos os

indivíduos, e apresenta incidência crescente com o aumento da idade (MCANDREWS & WU, 2013).

3.7.5.3 Hipotireoidismo primário

O hipotireoidismo primário é caracterizado pela diminuição de hormônios tireoidianos circulantes no sangue. Nesse caso, a produção de T3 e T4 está reduzida e o nível de TSH se eleva, como adaptação fisiológica esperada, pois a hipófise secreta mais TSH para estimular a tireoide a secretar maior quantidade de T3 e T4. Esta condição tem prevalência de 2% a 3% da população, podendo acarretar em falência desta glândula por problemas na hipófise e no hipotálamo (LOPES, 2002).

Sintomas como fadiga, cansaço, pele seca, ganho de peso, dificuldade de concentração e sonolência acentuada são relatados no estágio inicial da doença, estão relacionados com a falta da estimulação do metabolismo atribuída à menor secreção dos hormônios tireoidianos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

O hipotireoidismo primário está relacionado com a ausência ou perda do tecido tireoidiano, ou distúrbio na biossíntese hormonal. Quando o motivo da queda dos hormônios tireoidianos reside no centro do controle hipofisário ou hipotalâmico, tem-se o hipotireoidismo secundário que está relacionado com a diminuição de produção do TSH (hipofisário) ou TRH (hipotalâmico) (OLIVEIRA & MALDONADO, 2014).

3.7.5.4 Hipotireoidismo secundário

No hipotireoidismo secundário, observa-se a diminuição da função hipofisária ao secretar o TSH, que estimula a tireoide a sintetizar os hormônios T3 e T4. Os baixos níveis de T3 e T4 são consequência de níveis reduzidos de TSH, o que difere da gênese patológica da condição anterior, apesar dos sintomas apresentados serem semelhantes (LOPES, 2002; BRENTA *et al.*, 2013).

3.7.5.5 Hipotireoidismo terciário

Havendo disfunção hipotalâmica que cause diminuição da oferta de TRH à hipófise, esta glândula terá estímulo insuficiente para secretar o TSH, que, por conseguinte, diminuirá a produção de T3 e T4 pela tireoide. Geralmente, manifesta-se em conjunto com a doença hipofisária, mas pode surgir isoladamente (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

3.7.5.6 Sinais e sintomas clínicos do hipotireoidismo

A sintomatologia do hipotireoidismo manifesta-se em múltiplos sistemas, incluindo, bradicardia, hipertensão diastólica, edema periférico, derrame pericárdico, dispneia, derrame pleural, obstipação intestinal, baixa da taxa de filtração glomerular renal, aumento da creatinina, infertilidade, menorragia, *déficit* de memória, ataxia, dificuldade de concentração, fraqueza muscular, síndrome de aprisionamento de nervo (túnel do carpo), lentidão de reflexos, parestesias, diminuição na audição e psicose, pele grossa e seca, alopecia difusa e pele amarelada (UNIDADE DE ENDOCRINOLOGIA E DIABETES, 2015). Os sintomas diferem de acordo com o tipo de patologia ou agravo gerado no sistema endócrino, conforme mostra a Figura 6.

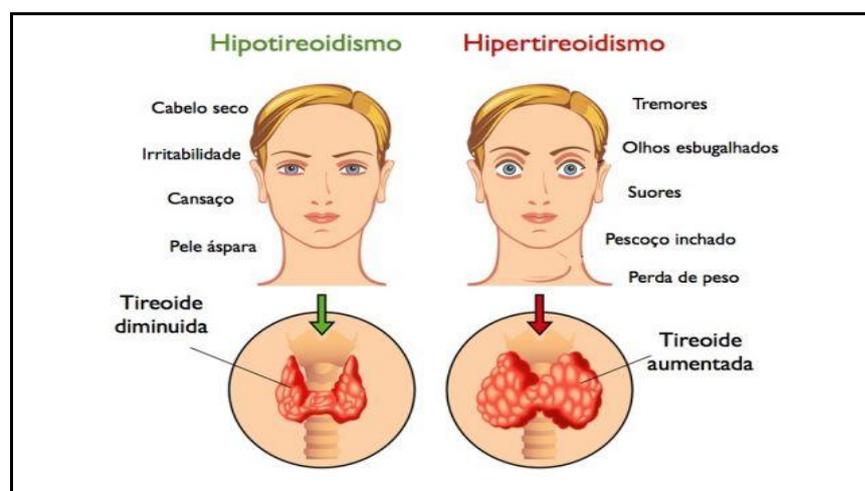


Figura 6 - Sinais e sintomas clínicos de hipotireoidismo e hipertireoidismo. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016)

3.7.5.7 Diagnóstico e tratamento do hipotireoidismo

O diagnóstico do hipotireoidismo pode ser realizado com base na dosagem dos níveis dos hormônios TSH, T3 e T4 no sangue. A detecção de níveis de T3 e T4 abaixo do normal e de TSH acima indica um quadro de hipotireoidismo primário. Quando os níveis de T3 e T4 se apresentam baixos, associados com níveis também reduzidos de TSH, suspeita-se de hipotireoidismo secundário. Conforme necessário, o clínico pode solicitar também a aferição dos níveis de TRH. Nos casos de suspeita da presença de tumor na tireoide, utiliza-se a ultra-sonografia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016).

Segundo a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (2016), o diagnóstico é simples e de baixo custo, porém muitas pessoas ainda não sabem que são portadoras desta doença. Desde 1950, a levotriiodotironina tem sido a droga de escolha para o tratamento do hipotireoidismo e a dose média necessária do medicamento para adultos é de 1,0 a 1,7µg/kg e, para idosos de 1,0 a 1,5 µg/kg. Porém, cuidados especiais devem ser observados para idosos e cardiopatas.

Para monitorar o tratamento, solicita-se o TSH sérico e T4 para buscar a condição de eutireoidismo, cujo seguimento deve ser feito a cada seis meses ou anualmente. Uma complicação do hipotireoidismo não tratado pode gerar o coma mixedematoso, e neste estágio o paciente apresenta hipotermia, bradicardia e grave hipotensão. Outro agravante é que o hipotireoidismo não tratado pode também ocasionar cardiomegalia (LOPES, 2002; BRENTA *et al.*, 2013).

A utilização de determinados medicamentos pode induzir disfunções na tireoide, como é o caso da amiodarona, droga rica em iodo muito utilizada para o tratamento de arritmias cardíacas, cujo uso crônico deste medicamento está associado com efeitos colaterais, destacando-se alterações na função tireoidiana e no metabolismo dos hormônios tireoidianos, levando a indução de hipotireoidismo (GUYTON & HALL, 2012). O custo médio anual por pessoa do tratamento do hipotireoidismo com drogas antitireoidianas é de R\$ 1.345,81.

3.7.6 Funções hepática e renal e suas relações com substâncias tóxicas

O fígado é o maior órgão do corpo humano, com peso médio de 1500g, representando de 2,5% a 4,5% da massa corporal total. Recebe, aproximadamente, 25% do débito cardíaco total, o que lhe permite realizar numerosas funções vitais e essenciais para a manutenção do equilíbrio metabólico. Também realiza várias funções de grande complexidade, dentre as quais se destaca o recebimento e a detoxificação de 20% do sangue rico em oxigênio que é enviado através da artéria hepática. O restante do sangue (80%), rico em nutrientes, é enviado através da veia porta. Este processo favorece a seleção de substâncias que serão absorvidas pela circulação sistêmica (MARTINS, 2012).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Hepatologia (2015), o fígado é responsável pelo funcionamento do sistema imunológico, através das células de Kupffer hepáticas que perfazem de 80% a 90% da população fixa de macrófagos do sistema reticuloendotelial. Estes são dotados de um importante mecanismo de filtro para a circulação sistêmica por realizarem a remoção de partículas exógenas estranhas (bactérias, endotoxinas e parasitas) e partículas endógenas (eritrócitos senescentes) do sangue.

Além de participar do equilíbrio humoral, o fígado é um órgão de grande importância devido à realização de várias reações fisiológicas, tais como síntese de proteínas, regulação do metabolismo de nutrientes, armazenamento de vitaminas, conversão de vitaminas ativas, desiodinação de T4 em T3, síntese de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) em resposta ao hormônio de crescimento produzido pela hipófise, síntese e secreção da bile (NUNES & MOREIRA, 2007).

Além das funções já citadas, o fígado desempenha outro importante papel que é de metabolizar e encaminhar para excreção toxinas e drogas, por meio da conversão de substâncias tóxicas ativas em formas inativas, principalmente no retículo endoplasmático dos hepatócitos, tornando-as mais solúveis e passíveis de excreção pelos rins ou diretamente pela bile (SCHINONI, 2008). Dentre os metabólitos tóxicos, destaca-se a amônia que se origina do catabolismo das proteínas e da atividade bacteriana, sendo

transportada facilmente pelo plasma, a qual em grande quantidade na corrente sanguínea se torna tóxica para o SNC (BERNE, 2004).

No processo de detoxificação participam as enzimas AST, ALT e glutamato desidrogenase (GDH), as quais catalisam reações reversíveis no fígado. Essas enzimas atuam na síntese ou no catabolismo de alanina e do aspartato, conforme a necessidade da célula hepática (COOPER, 2011). O glutamato das células extra-hepáticas transfere seu grupo α -amino para o piruvato originando α -cetoglutarato e alanina. A alanina formada é transportada pelo sangue para o fígado, e quando chega aos hepatócitos, a enzima ALT hepática transfere o grupo α -amino da alanina para o α -cetoglutarato, formando piruvato e glutamato (ADEVA *et al.*, 2012).

Aliada à função intrínseca de detoxificação do organismo realizada pelo fígado, o sistema renal também participa do processo de eliminação de resíduos ou metabólicos tóxicos que não são reabsorvidos pelo organismo, desempenhando a função de filtrar o sangue e recolher os resíduos metabólicos das células para posterior excreção. O produto final é a urina, formada pelos néfrons que é a unidade funcional básica dos rins. Através da urina, ocorre o controle de eliminação de água, sais minerais, resíduos metabólicos e substâncias que, em excesso, desequilibrariam o organismo (MORAES & COLICIGNO, 2007).

Considerando a importância fisiológica dos sistemas hepático e renal, e o tropismo por compostos estranhos inerentes à função de detoxificação, as condições que implicam em danos a esses sistemas têm impacto direto sobre o organismo. Por isso, a avaliação da função hepática e renal é importante aos estudos que investigam toxicidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA, 2015).

Os rins também são fundamentais para a síntese de hormônios importantes, como a eritropoetina que é imprescindível para a produção de hemácias; para o processo de ativação da vitamina D em calcitriol importante para calcificação dos ossos; e para a liberação da angiotensina II, renina, aldosterona e ADH que regulam a reabsorção de água e Cloreto de sódio (NaCl) (BERNE, 2004). O processo de filtração glomerular é regulado, geralmente, pelo aumento da pressão arterial sistêmica, pela vasodilatação da

arteríola aferente e pela vasoconstrição de arteríola eferente que são capazes de aumentar a taxa de filtração renal. Os sistemas reguladores são sistema renina-angiotensina-Aldosterona, retroalimentação túbulo glomerular, reflexo miogênico e fatores extra renais (BERNE, 2004; BARROS, 2006).

3.7.7 Doenças hepáticas e renais

Em relação às alterações do sistema hepático, as manifestações clínicas se caracterizam por anorexia, distensão abdominal, dor no hipocôndrio direito, fadiga, hemorragia intestinal, hepatomegalia, icterícia, náuseas, vômitos, prurido, entre outros. Estes achados clínicos não garantem o acometimento do fígado, mas representam forte indicadores a serem investigado. Além destes sinais e sintomas clínicos, destaca-se a cirrose que é indicativo de doença hepática terminal (NUNES & MOREIRA, 2007).

Para o diagnóstico das doenças hepáticas, deve-se considerar a dosagem sorológica de importantes transaminases que são indicadores sensíveis de dano hepático. Destacam-se as enzimas TGO e TGP, que, em condições normais, encontra-se em quantidades mínimas no sangue. Entretanto, após a destruição de hepatócitos, elas aumentam significativamente. Portanto, são enzimas intracelulares indicadoras de morte celular. A TGP e a TGO são citoplasmáticas e a TGO também tem localização mitocondrial (BARBOSA, 2010).

A transaminase TGO é encontrada em tecidos como cérebro, coração, músculo esquelético, pâncreas e rins, sendo menos específica para lesão hepática quando comparada com a TGP, que encontra-se predominantemente no fígado. Quando ocorre uma lesão hepática, há elevação dos níveis enzimáticos sanguíneos, sendo que a TGP aumenta ligeiramente quando comparada com a TGO. Porém, na lesão hepática alcoólica ocorre elevação da TGO cerca de 2 a 3 vezes maior que a TGP, pois o álcool possui efeito inibidor na síntese de TGP (SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA, 2015).

Quando o fígado sofre uma disfunção grave, praticamente todos os órgãos são atingidos, conseqüentemente a circulação hiperdinâmica. Ocorre desequilíbrio entre vasoconstrictores, vasodilatadores e outros mediadores

metabolizados ou sintetizados por ele, com consequência para todos os sistemas fisiológicos (GUYTON & HALL, 2012).

Em relação ao sistema renal, os parâmetros de equilíbrio são verificados através de exames laboratoriais dosando os níveis de creatinina e ureia. A creatinina é um resíduo produzido pela quebra de uma proteína chamada creatina fosfato, produzida no fígado, rins e pâncreas, sendo transportada para o músculo e cérebro, onde sofre um processo de fosforilação e se transforma em creatina fosfato, também conhecido como fosfocreatina. A creatina fosfato constitui-se num composto de elevada reserva energética essencial para o processo de contração muscular (DAVIES; BLAKLELEY; KIDD, 2002).

A excreção deste composto ocorre através dos fluidos corporais a uma taxa constante e os valores plasmáticos são mantidos em limites estreitos por isso é utilizada para avaliar especialmente da taxa de filtração glomerular. Visto que uma pequena quantidade de creatinina está presente na urina (7-10%) é decorrente da secreção tubular. Portanto, a dosagem sanguínea dos níveis de creatinina pode informar a condição de funcionamento dos rins (BASTOS *et al.* 2011).

A ureia é o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretados pelos rins, correspondendo a aproximadamente 75% do nitrogênio não proteico excretado. O restante é eliminado pelo trato gastrointestinal e pela pele. Quando o rim perde a capacidade de filtração, o valor da ureia circulante na corrente sanguínea se torna elevado (SODRÉ *et al.*, 2007).

As patologias advindas de distúrbios renais afetam mais de 20 milhões de pessoas, sendo responsáveis por mais de 80.000 mortes por ano nos Estados Unidos. Portanto, para a avaliação da função renal, deve ser realizada a análise dos parâmetros de quantidade de resíduos de substâncias específica na urina, taxa de filtração glomerular, reabsorção da substância do líquido tubular de volta ao sangue e secreção da substância do sangue para o líquido tubular. Entretanto, a análise mais utilizada na prática clínica para verificar a condição dos rins é a mensuração bioquímica da creatinina sanguínea que mostra a intensidade de filtração glomerular (BERNE, 2004).

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo pré-clínico experimental quantitativo que foi conduzido no laboratório de farmacologia e biotério da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE), após aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UNIVILLE), sob o parecer consubstânciado N°003/2016 emitido em 21 de março de 2016.

4.2 Reagentes

Foi utilizado o próprio MLT500 EC^{®f} fabricado por Cheminova A/S (Fábrica) Thyboronvej 76- 78 DK 7673 Harboore Denmark, registrado por Cheminova Brasil Ltda. FORMULADOR: FMC Química do Brasil Ltda, localizada à Avenida Antônio Carlos Guillaumon, 25 – Distr. Industrial III, Uberaba-MG, distribuído por Sipcam Agro S/A Rua Igarapava, 599 - Distrito Industrial III Uberaba-MG. As análises foram realizadas em parceria com o laboratório da cidade de Jaragua do Sul-SC e os kits de reagentes para dosagem externa de TGO, TGP, creatinina e ureia, T3, T4 e TSH da marca Labtest para o aparelho Advia Centaur Classic foram adquiridos da distribuidora Labourt (localizada à Rua Kurt Rantour 157, bairro Capoeiras, Florianópolis – SC).

4.3 Amostra selecionada

Foram utilizadas ratas da espécie *Rattus norvegicus*, da linhagem *Wistar*, pesando entre 200-250 gramas, com idade aproximada de 60 dias, provenientes do biotério da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais tiveram livre acesso à ração e água e foram mantidos em salas com ciclo de luz claro-escuro de doze horas (luzes acesas às 7 horas da manhã e desligadas às 7 horas da noite). As salas de manutenção dos

animais também possuíam temperatura controlada de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade entre 40% e 60%. Foram mantidos até cinco animais por caixa, com cama de maravalha, trocada em dias alternados.

4.4 Protocolo experimental

4.4.1 Estudo *in vivo*

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais contendo 10 ratas cada, conforme mostra o Quadro 2, exceto o animais do grupo 1 receberam solução salina 0,9% (0,1 mL/100 g, via oral), enquanto os animais dos grupos 2, 3 e 4 foram tratados com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/Kg, por via oral, respectivamente. Essas doses foram selecionadas no sentido de proporcionar a avaliação da influência de uma ampla faixa de variação de exposição abaixo da dose letal mediana para triagem de distúrbios das funções hepática, renal e tireoidiana. Os tratamentos foram realizados diariamente por 21 dias.

Os animais utilizados foram submetidos a uma intoxicação subaguda, que é caracterizada pela exposição a substância durante o período compreendido entre 14 dias e 3 meses (WHO, 2003) o modelo foi selecionados de acordo com estudos de TOS-LUTY *et al.* (2003) e INOUYE *et al.* (2014).

Vinte e quatro horas após o último tratamento, os animais foram eutanasiados por decapitação para a coleta de amostras de sangue para análise. Esse método foi selecionado, pois evita o efeito de interferentes como a ação de anestésicos gerais e proporciona volume de sangue suficiente para as análises.

Quadro 2. Distribuição das doses do organofosforado MLT por grupos de ratas para estudo (grupo controle e grupo tratado).

Grupos	Tratamento	Número de animais
Grupo Controle 1	Salina 0,1 mL/100 g via oral	6
Grupo Tratado 2	MLT 10 mg/Kg via oral	10
Grupo Tratado 3	MLT 50 mg/Kg via oral	10
Grupo Tratado 4	MLT 100 mg/Kg via oral	10

4.5 Análise bioquímica do nível sanguíneo de hormônios

O sangue recolhido foi centrifugado a 3000 rpm, durante 20 minutos. O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização das determinações. Todos os procedimentos com animais seguiram o Guia de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório publicado pelo Ministério da Saúde, conforme Lei N°11.794/2008. Foram mensurados os níveis de TGO, TGP para avaliação da função hepática, de ureia e de creatinina para avaliação da função renal e de T3, T4 e TSH para avaliar a função tireoidiana. O soro foi submetido a reações com kits formadores de produtos passíveis de leitura espectrofotométrica para determinação da quantidade de hormônios nas amostras.

4.6 Apresentação dos dados e análise estatística

Os dados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) dos animais de cada grupo, apresentados como gráficos elaborados no programa Graphpad Prism 6.0 para melhor visualização dos dados.

Para analisar os dados entre valores do grupo controle e os grupos testados com as diferentes dosagens, foi realizada análise de variância (ANOVA), seguida de test *post hoc* de Tukey para avaliação de diferença estatisticamente relevante entre os grupos, sendo considerada significativa para valor de $P \leq 0,05$. A análise estatística também foi realizada utilizando o programa Graphpad Prism 6.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da função hepática

Os animais que foram tratados com solução salina apresentaram concentração sanguínea média de TGO de $211,0 \pm 21,4$ U/L. Os animais que foram tratados com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg apresentaram níveis sanguíneos de TGO de $280,0 \pm 19,4$, $356,5 \pm 13,1$ e $331,7 \pm 23,1$ U/L, respectivamente. Esses dados permitem observar que houve diferença estatisticamente significativa entre o nível sanguíneo de TGO dos animais que receberam as doses de 50 e 100 mg/kg de MLT e daqueles que receberam apenas solução salina durante o período de tratamento considerado, sugerindo que houve alteração de função hepática significativa nessas doses. Esses dados podem ser observados na Figura 7.

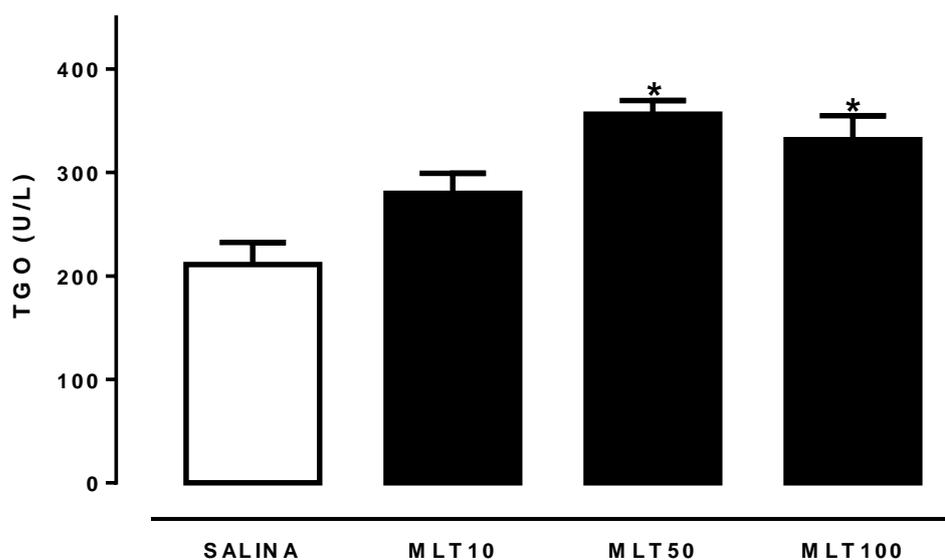


Figura 7. Concentração sanguínea de transaminase glutâmica oxalacética TGO dos animais após tratamento com MLT. Houve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de animais que recebeu solução salina ($p < 0,01$).

Referente à concentração sanguínea de TGP (ou ALT), os animais que foram tratados com solução salina apresentaram média de $94,4 \pm 10,5$ U/L. Os animais que foram tratados com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg

apresentaram níveis sanguíneos de TGP de $97,4 \pm 5,8$; $138,6 \pm 18,3$ e $159,8 \pm 19,9$ U/L, respectivamente. Esses dados permitem observar que houve diferença estatisticamente significativa entre o nível sanguíneo de TGP dos animais que receberam as doses de 50 e 100 mg/kg de MLT e daqueles que receberam apenas solução salina durante o período de tratamento considerado. Desse modo, percebe-se que houve elevação significativa em relação aos dois parâmetros de avaliação da função hepática, apontando para a hepatotoxicidade induzida pelo inseticida nas doses de 50 e 100 mg/kg, quando administradas uma vez ao dia por vinte e um dias. Esses dados podem ser observados na Figura 8.

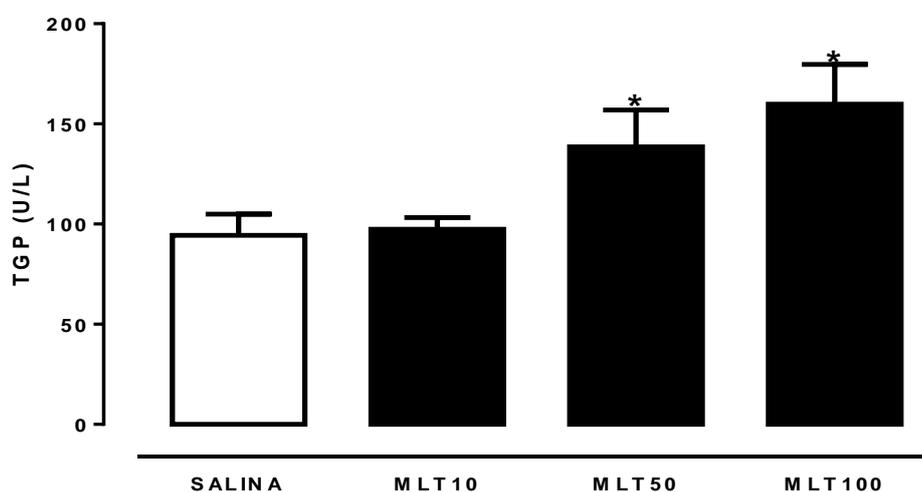


Figura 8. Concentração sanguínea de transaminase glutâmico-piruvica (TGP) dos animais após tratamento com MLT. Apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de animais que recebeu solução salina ($p < 0,01$).

O fígado participa de numerosos processos fisiológicos ligados à manutenção da homeostasia, desde o metabolismo da glicose, síntese de muitas proteínas e lipídios, lipoproteínas e ácidos biliares, armazenamento de vitaminas (B12, A, D, E, K), biotransformação, desintoxicação e excreção de substâncias endógenas e exógenas (BARBOSA *et al.*, 2010). É o órgão alvo para a seleção de metabólitos circulantes, mediante a absorção de nutrientes ou excreção de metabólitos tóxicos para posterior filtração renal e excreção

urinária, portanto pode sofrer agravos se houver uma elevada quantidade de metabólitos, principalmente de substâncias tóxicas, que comprometam o processo de seleção e eliminação (AIRES, 2013).

O fígado é considerado o primeiro órgão a ter contato com a maioria dos xenobióticos, dada a função de detoxificação da maioria das substâncias químicas estranhas ao organismo para forma inativada a fim de serem excretadas (APTE & KRISHNAMURTHY, 2011). O fígado também pode ficar exposto a metabolização de substâncias que podem ser convertidas potencialmente em tóxicas para o tecido hepático, as quais podem se concentrar durante a formação da bile. A movimentação dessas substâncias pelo trato gastrointestinal pode ocasionar a reabsorção e o transporte novamente para o fígado, através da circulação hepática, levando ao aumento da concentração destes compostos no órgão, em especial os agrotóxicos (HODGSON, 2010).

Frente a isso, faz-se necessário o monitoramento de possível alteração hepática, mediante a utilização de exames laboratoriais do nível sanguíneo de TGO e TGP, que se apresentam em grandes quantidades nos hepatócitos e cujas alterações são importantes para definir a intervenção clínica a ser escolhida para o tratamento (DITTRICH, 2010).

A TGO existe tanto na forma citoplasmática quanto mitocondrial, sendo encontrada em vários órgãos, como fígado, coração, músculo esquelético e rins. A TGP pode ser encontrada no fígado e, em menor quantidade, nos rins e músculos esqueléticos, sendo exclusivamente citoplasmática (AMACHER, 1998). Desse modo, as duas enzimas podem ser utilizadas como parâmetros para avaliação da função hepática. Em condições de hepatotoxicidade, os níveis de TGO e TGP encontram-se elevados no sangue, devido à lise dos hepatócitos. A elevação da TGO é menos específica, uma vez que essa enzima está distribuída em vários outros órgãos, mas possui valor preditivo que, associado com o acréscimo dos níveis de TGP, é um indicador mais confiável para inferência de toxicidade hepática importante.

Estas transaminases são enzimas envolvidas no catabolismo hepático de aminoácidos, cuja função é transferir o grupo amino de diferentes aminoácidos, na forma de glutamato que funciona como um doador de grupos

amino para as vias biossintéticas ou de eliminação de compostos nitrogenados (GUYTON & HALL, 2012).

As enzimas fosfatase alcalina, a gama-glutamil transferase associados à dosagem de bilirrubinas e suas frações também são testes úteis para avaliar a função hepática, pois fornecem informações importantes que mostram a condição de injúria do fígado e a extensão do dano hepatocelular (BERNE, 2004).

Após a ocorrência da lesão ou morte das células hepáticas, as enzimas TGO e TGP são liberadas na circulação. Conforme a quantidade presente na corrente sanguínea define-se a gravidade da necrose hepática (GOLDMAN & AUSIELLO, 2009).

A TGP é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito. Em relação a TGO, 80% encontra-se presente na mitocôndria do miocárdio, fígado e músculo esquelético, enquanto pequena quantidade fica localizada nos rins, pâncreas, baço, cérebro pulmões e eritrócitos. A TGO possui atividade cerca de 7.000 vezes maior no plasma com elevados índices nos hepatócitos, no entanto, a TGP chega a ser aproximadamente 3.000 vezes mais ativa no hepatócito em relação ao plasma (PAROLIN *et al.*, 2009).

O aumento nos valores das enzimas TGO e TGP caracteriza uma possível lesão hepatocelular, aguda ou crônica (BERNE, 2004). O aumento expressivo dos níveis de TGO e TGP maior que 15 vezes o limite normal reflete necrose hepatocelular aguda devido a causas virais ou tóxicas (GOLDMAN & AUSIELLO, 2009).

Em relação à avaliação da função hepática no presente estudo, foi observada diferença estatisticamente significativa entre o nível sanguíneo de TGO e TGP dos animais que receberam as doses de 50 e 100 mg/kg de MLT e os que receberam apenas veículo dentro do período de tratamento considerado. Esse achado é concordante com o estudo de Inouye *et al.* (2014), realizado com 39 ratos albinos machos e fêmeas, durante 7, 14 e 21 dias com aplicação diária de MLT 500 CE em dose de 250 mg/kg do peso corporal associada com pelo menos três tipos de lesões no fígado (esteatose, necrose e infiltração leucocitária). O estudo de Tos-Luty *et al.* (2003) também evidenciou que ratos que receberam doses de 8 e 16 mg/kg de MLT por via oral ou

dérmica durante 28 dias apresentaram graus variados de alterações histopatológicas no fígado, rins, coração e pulmões.

O estudo de Ranjbar, Mohsenzadeh & Baeeri (2014) utilizou MLT como modelo de hepatotoxicidade em dose de 200 mg/kg por 14 dias para verificar sua atenuação por vitamina E, ressaltando o potencial do MLT para promover lesão hepática significativa. Kalender *et al.* (2009) também aproveitaram as propriedades hepatotóxicas do MLT para testar a capacidade das vitaminas C e E em preveni-la. Esses estudos, em conjunto, tornam mais robusta a evidência da hepatotoxicidade do MLT, que foi reproduzida também no presente trabalho.

Possamai *et al.* (2007) evidenciaram intensa toxicidade renal, cardíaca e hepática após a aplicação intraperitoneal de várias doses (25, 50, 100 e 150 mg/kg) de MLT, caracterizando dano específico em condição de exposição aguda e subcrônica por 28 dias. Apesar dos mecanismos de lesão não serem completamente compreendidos, a elevação de radicais livres foi apontada como fator atuante direta ou indiretamente na geração da toxicidade observada.

Na avaliação histológica do efeito de MLT no fígado e nos tecidos de rim de ratas albinas, realizado por Mamun *et al.*, (2015), com 4 grupos que receberam doses de 1300, 260, 52, 10,5 mg/kg de MLT via oral por 15 dias e observou diversas alterações histopatológicas como aumento das sinusoides e formação de vacúolos em hepatócitos, congestão de vasos sanguíneos de tecido hepático, hemorragia e necrose no tecido hepático, novamente reforçando a hepatotoxicidade causada pela exposição ao MLT.

Kayhan (2008) administrou por via oral durante 15 dias MLT nas doses de 33 mg/kg junto com endosulfan 1mg/kg em ratos machos e verificou sinergismo entre a ingestão de dois organofosforados ao mesmo tempo, levando a peroxidação lipídica aumentada em ratos, desempenhando um papel importante no mecanismo de toxicidade e hepatotoxicidade nestas doses e período de exposição.

Elzoghby *et al* (2014), ao submeterem um grupo de ratos albinos a dose de 50 mg/kg de MLT durante 4 semanas por via oral também constataram aumento significativo nas concentrações sanguíneas de TGO e TGP em

relação ao grupo controle. Em outro estudo realizado com ratos machos Wistar com peso de 200-250 g expostos a MLT por via oral durante 3 semanas (0,15 mg/kg/dia, 2 mg/kg/dia e 15 mg/kg/ dia), foram verificadas alterações morfológicas no tecido, indicando hepatite reativa e hepatite tóxica, devido o estresse oxidativo induzido por organofosforado (DELIA & ARREDONDO, 2013).

Ao submeter ratos machos da estirpe *Sprague Dawley* a doses superiores a 150mg/kg de MLT via intraperitoneal juntamente com ácido cítrico (200 ou 400 mg/kg, por via oral) durante 4 horas, Salam *et al.*, (2016) verificaram danos histológicos e aumento da expressão de óxido nítrico induzível (iNOS) no cérebro e no fígado, aumento da peroxidação lipídica (malondialdeído) e aumento das enzimas TGO e TGP.

Rezg *et al.* (2008) ao utilizar a dosagem de 100 mg/kg/dia de MLT, via sonda gástrica, com exposição subcrônica durante 32 dias em ratos, observaram aumento da taxa do malondialdeído (MDA) no fígado e o aumento concomitante da atividade das transaminases séricas, sugerindo que essa exposição subcrônica ao MLT provocou a degradação dos lípideos de membrana e, portanto, altera a integridade dos hepatócitos causando a liberação destas enzimas na corrente sanguínea, gerando toxicidade.

Os achados de Selmi, El-Fazaa & Gharbi (2015) mostraram que ratas expostas a dose de 200mg/kg por 21 dias durante a amamentação de seus filhotes permitiu inclusive contaminação da prole por meio do leite materno, expressando alterações das enzimas TGO e TGP como indicadores de hepatotoxicidade causados pelo MLT.

Na dose de 100mg/kg do MLT, utilizada também no presente estudo, Al-Attar (2010), verificou hepatotoxicidade semelhante em ratos expostos trinta dias por via oral, além de dano na estrutura hepática.

O MLT é um OF que como os demais compostos deste grupo exercem ação negativa sobre vários órgãos, principalmente sobre o fígado. Um destes produtos OF é o glifosato Roundup®, que foi utilizado para verificar efeitos da exposição materna a este composto em diferentes parâmetros bioquímicos no fígado de ratas *Wistar* prenhas, que foram expostas a 1% de Roundup® (0,36% de glifosato) na água de beber a partir do 5º dia gestacional até os

filhotes completarem 15 dias de idade. Foram observadas redução da massa, elevação do influxo de cálcio e de espécies reativas de oxigênio no fígado dos filhotes (RIEG, 2016).

Outro OF, usado amplamente na agricultura que representa riscos à saúde humana, além da flora e fauna, é o clorpirifós que também mostrou-se hepatotóxico na dose de 2,5 mg/kg ministrado via oral em ratas por oito semanas, apresentando alterações histológicas como infiltração de leucócitos, sinusoides sanguíneos dilatados e vacuolização citoplasmática no fígado e nos rins, com diminuição significativa no valor do glicogênio hepático (IBRAHIM *et al.*, 2012).

Esses estudos, em conjunto, sustentam o papel do MLT como marcador de hepatotoxicidade. Os resultados encontrados no presente estudo são concordantes com esse padrão de toxicidade, cuja intensidade foi estatisticamente significativa em relativamente curto prazo de exposição.

Estendendo essas considerações para a raça humana, foi realizado um estudo sobre a exposição ambiental ao MLT durante a gravidez de 97 mulheres residentes na zona rural de Rio Negro (SC), que praticavam a aplicação desta substância na lavoura, por período de 6 meses. Verificou-se nesse estudo que a exposição aos pesticidas constituiu risco importante associado à ocorrência de parto prematuro. Além desse risco evidenciado, considerando a exposição comunitária de pessoas que não trabalham com a borrifação dos pesticidas, que pode dar-se por toda a vida por meio do consumo de resíduos de MLT contidos nos alimentos por toda a vida, a preocupação com a toxicidade hepática desse composto em longo prazo merece melhor avaliação (SOARES, 2010).

5.2 Avaliação da função renal

Os animais que foram tratados com solução salina apresentaram concentração sanguínea média de ureia de $33,67 \pm 0,88$ mg/dl e os animais que receberam MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg apresentaram concentração sanguínea média de ureia de $38,44 \pm 0,72$; $36,90 \pm 2,08$ e $32,22 \pm 1,66$ mg/dl, respectivamente. Assim, no período de administração

considerado e com as doses utilizadas neste estudo, não foram observadas alterações significativas na função renal dos animais para esse parâmetro. Esses dados podem ser observados na Figura 9.

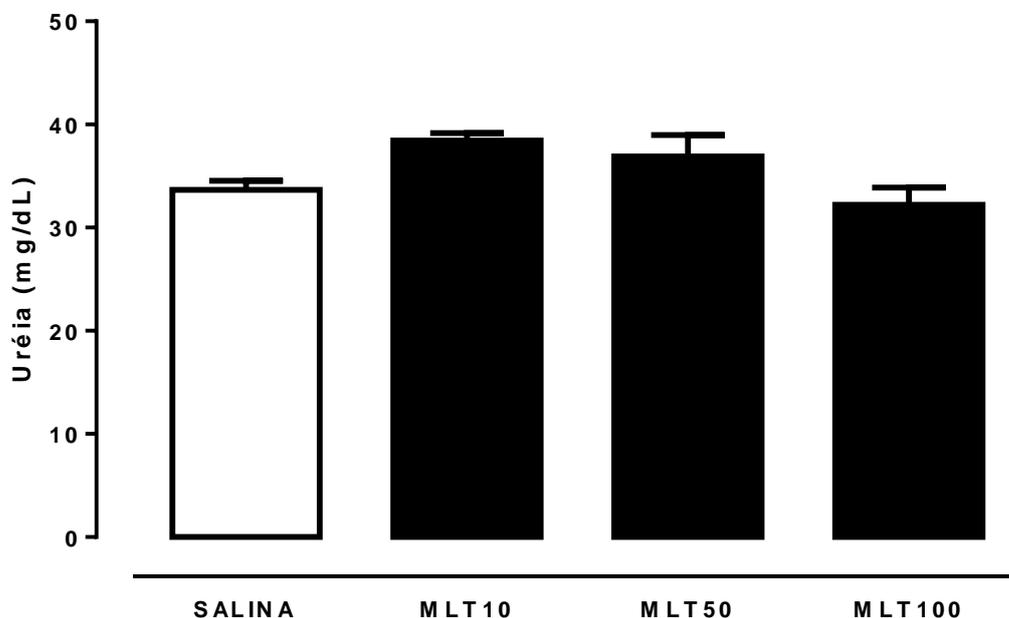


Figura 9. Concentração sanguínea de ureia dos animais após tratamento com MLT.

Os animais que foram tratados com solução salina apresentaram concentração sanguínea média de creatinina de $0,52 \pm 0,03$ mg/dl e os animais que receberam MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg apresentaram concentração média de creatinina sanguínea de $0,53 \pm 0,03$; $0,49 \pm 0,02$ e $0,58 \pm 0,03$ mg/dl, respectivamente. Assim, no período de administração considerado e com as doses utilizadas neste estudo, não foram observadas alterações significativas na função renal dos animais para esse parâmetro. Esses resultados podem ser observados na Figura 10.

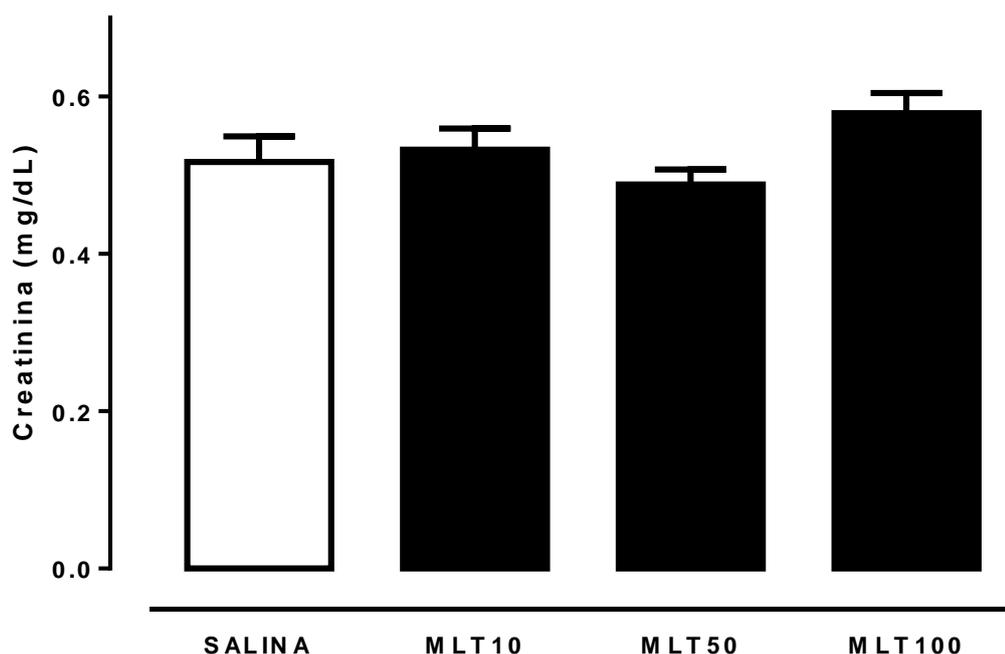


Figura 10. Concentração sanguínea de creatinina dos animais após tratamento com MLT. Não houve diferença estatisticamente significativo para uréia e creatinina entre os grupos para este parâmetro.

Frente os achados em relação à função renal, é importante ressaltar que os rins também são responsáveis pela eliminação de toxinas ou resíduos resultantes do metabolismo corporal, como ureia, creatinina, ácido úrico e xenobióticos, além de participar do controle do pH e do volume sanguíneo, da manutenção do equilíbrio hídrico do organismo, eliminando o excesso de água, sais e eletrólitos, o que evita a formação de edema e a elevação da pressão arterial sistêmica. Os rins também são responsáveis pela síntese de eritropoietina que é promotora da formação de glóbulos vermelhos e pela ativação da vitamina D, que auxilia na absorção intestinal de cálcio. A produção de renina pelos rins também é fundamental na regulação da volemia e da pressão arterial (NUNES, 2003). Dadas todas essas funções, a pesquisa da toxicidade sobre os rins é imediatamente justificada.

Para avaliação da função renal, utilizam-se dois biomarcadores: creatinina e ureia. Os aminoácidos provenientes da dieta sofrem desaminação, liberando amônia que, por se tratar de um metabólito tóxico, é convertida no

fígado em ureia, que é transportada pelo sangue aos rins, onde sofre filtração glomerular (SHAYAKUL & HEDIGER, 2013). Deste modo, entende-se que a proporção de ureia presente na urina é produto da taxa de filtração renal da mesma. Entretanto, a ureia possui fontes muito variadas e sua velocidade de filtração é menos previsível do que a da creatinina (ADEVA *et al.*, 2012). Logo, a ureia constitui um indicador menos específico da função renal. Apesar de termos registrado níveis ligeiramente maiores de ureia, a diferença não é significativa (LILLIE *et al.* 1996).

A creatinina é um resíduo metabólico obtido a partir da desidratação não proteica e perda do ácido fosfórico das moléculas de creatina e creatina-fosfato, encontradas no tecido muscular, onde representam reserva de energia. O metabólito passa por difusão para o plasma, de onde é removido quase inteiramente pelos rins e em velocidade constante por filtração glomerular (JUNIOR, 2004). Assim, em condições nas quais exista diminuição da filtração renal, seja por causas pré ou pós-renais, como necrose muscular, atrofia ou compressão dos ureteres, cálculos renais, lesões glomerulares, tubulares ou vasculares, segue-se obrigatoriamente o aumento dos níveis sanguíneos de creatinina (LAMB, 2011). Portanto, devido ao fato de sua filtração ocorrer em velocidade praticamente constante e não ser influenciada pelo metabolismo proteico, a mensuração deste composto é extremamente útil para avaliação da função renal (AJITH, USHA & NIVITHA, 2006).

Considerando a função imediata de detoxificação dos rins, foi realizada avaliação da toxicidade do MLT sobre esse órgão no presente estudo, por meio da aferição da concentração sanguínea de creatinina. No tempo de tratamento de 21 dias nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, não foi observado aumento significativo dos níveis de creatinina no sangue, o que permite inferir que, nessas condições, não houve perturbação significativa da função renal.

Bosco *et al.* (1997) realizaram avaliação de parâmetros morfológicos e funcionais de roedores da espécie *Octodon degus* após exposição ao MLT em dose de 200 ppm diluídos na água dos animais diariamente por noventa dias. Foram observadas hiperplasia e hipertrofia marcantes das células tubulares dos néfrons, apesar de não haver alteração na taxa de filtração glomerular de sódio e cloreto, mas foi percebido aumento da excreção de potássio. O estudo

de Tos-Luty *et al.* (2003) também evidenciou que ratos que receberam MLT por via oral ou dérmica nas doses 8 e 16 mg/kg durante 28 dias apresentaram alterações morfológicas renais, contudo, nesses trabalhos não foi realizada a dosagem do nível sanguíneo de creatinina, o que limita a comparação com o resultado do presente estudo.

No estudo de Possamai *et al.* (2007) foi observado sensível dano oxidativo nos rins dos ratos *Wistar*, quando administrado MLT via intraperitoneal em doses de 25, 50, 100 e 150 mg/kg, após 28 dias de exposição. Contudo, o estudo de Al-Attar (2010), que utilizou a dose de 100 mg/kg por dia em ratas, mostrou elevação dos valores de creatinina e ureia, após 30 dias de exposição. Essa diferença no tempo de exposição pode ter sido o diferencial para que fosse encontrada a nefrotoxicidade no estudo de Al-Attar e que não foi expressa no estudo presente, cuja exposição foi de dez dias a menos.

Os danos renais ocasionados pelo MLT também foram demonstrados no estudo de Selmi *et al.*, (2015), que mostrou a contaminação dos filhotes de ratas através do leite materno por MLT, após exposição das ratas a dose de 200 mg/kg por 21 dias do período de amamentação, que resultou em aumento significativo nos pesos relativos de ambos os rins dos filhotes.

Também para a dose de 50mg/kg de MLT via oral, Elzoghby *et al.* (2014), ao submeterem um grupo de ratos albinos por 4 semanas, constataram elevação do nível sanguíneo de ureia em relação ao grupo controle. Novamente, é possível que se o prazo de exposição do presente estudo fosse estendido, que pudesse ter sido observado padrão de nefrotoxicidade similar ao dos trabalhos de *Elzoghby et al.*,(2014) e Al-Attar (2010).

Mossalam *et al.* (2011) descreveram a elevação sanguínea de creatinina e ureia após exposição ao MLT na dose de 27 mg/kg por um mês, além de aumento do peso, degeneração e necrose celular renal. Como o composto em teste tratava-se de extrato de uma planta que concentrava ativos antioxidantes, a renoproteção encontrada pelos autores foi atribuída à proteção renal contra espécies reativas de oxigênio. No presente estudo, não foi observada elevação significativa dos parâmetros de função renal. (BLAKLELEY; KIDD, 2002; DAVIES, 2002; GUYTON & HALL, 2012).

5.3 Avaliação da função tireoidiana

5.3.1 Hormônio T3

Os animais que foram tratados com solução salina apresentaram concentração sanguínea média de T3 de $0,7540 \pm 0,0468$ U/L. Os animais que foram tratados com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg apresentaram níveis sanguíneos de T3 de $0,9000 \pm 0,0833$; $0,8290 \pm 0,0465$ e $0,8022 \pm 0,0415$ U/L, respectivamente. Esses dados permitem observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre o nível sanguíneo de T3 dos animais que receberam as doses de 10, 50 e 100 mg/kg de MLT e daqueles que receberam apenas solução salina durante o período de tratamento considerado, sugerindo que não houve alteração significativa na função tireoidiana nessas doses. Esses dados podem ser observados na Figura 11.

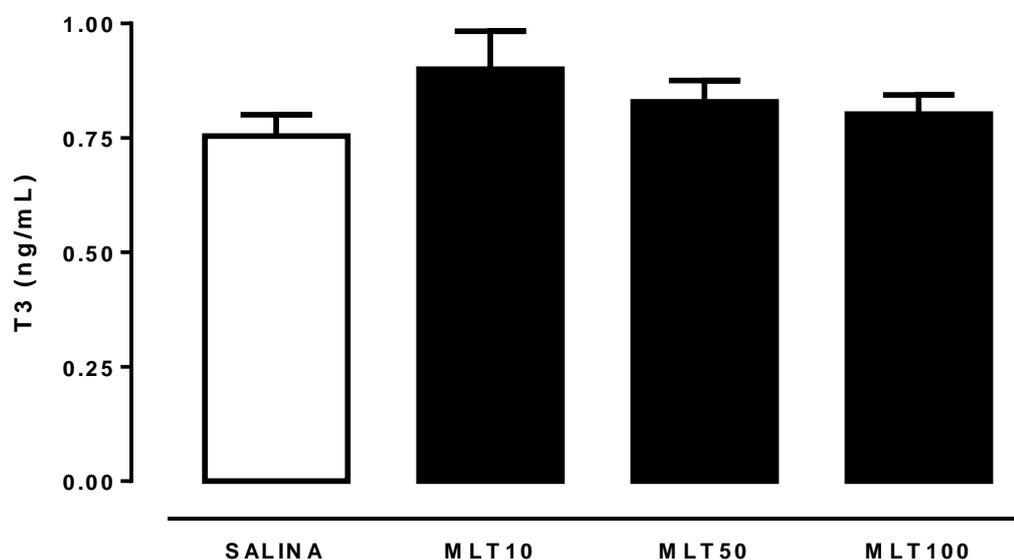


Figura 11. Concentração sanguínea de T3 dos animais após tratamento com MLT. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para esse parâmetro.

5.3.2 Hormônio T4

Os animais que foram tratados com solução salina apresentaram concentração sanguínea média de T4 de $4,533 \pm 0,1308$ U/L. Os animais que foram tratados com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg apresentaram níveis sanguíneos de T3 de $4,8440 \pm 0,2056$; $5,1000 \pm 0,3073$ e $5,2440 \pm 0,2583$ U/L, respectivamente. Esses dados permitem observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre o nível sanguíneo de T4 dos animais que receberam as doses de 10, 50 e 100 mg/kg de MLT e aqueles que receberam apenas solução salina durante o período de tratamento considerado, sugerindo que não houve alteração significativa da função tireoidiana nessas doses. Esses dados podem ser observados na Figura 12.

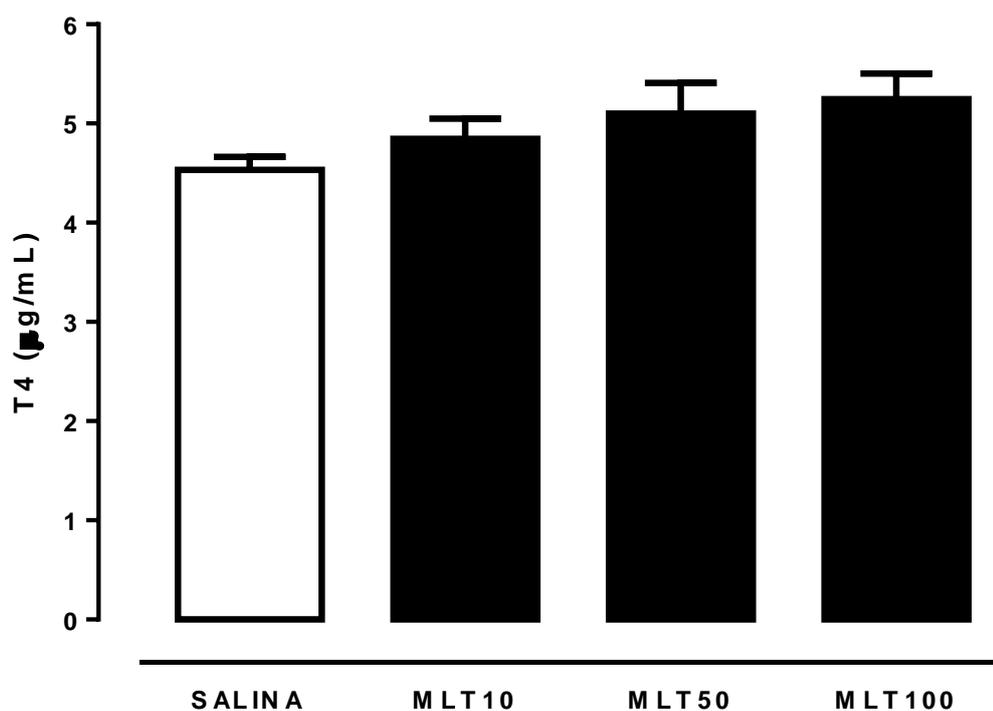


Figura 12. Concentração sanguínea de T4 dos animais após tratamento com MLT. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para esse parâmetro.

5.3.3 Hormônio TSH

Referente à concentração sanguínea de TSH, os animais que foram tratados com solução salina apresentaram concentração sanguínea média de $0,050 \pm 0,006 \mu\text{U/ml}$. Os animais que foram tratados com MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, apresentaram níveis sanguíneos de TSH de $0,025 \pm 0,006$; $0,033 \pm 0,002$ e $0,029 \pm 0,002 \mu\text{U/ml}$, respectivamente. Esses dados permitem observar que houve diferença estatisticamente significativa entre o nível sanguíneo de TSH dos animais para todas as doses administradas. Contudo, cabe observar que esse efeito não foi dose dependente, posto que não houve diferença estatisticamente significativa para os níveis de TSH dentre as diferentes doses utilizadas. Esses dados podem ser observados na Figura 13.

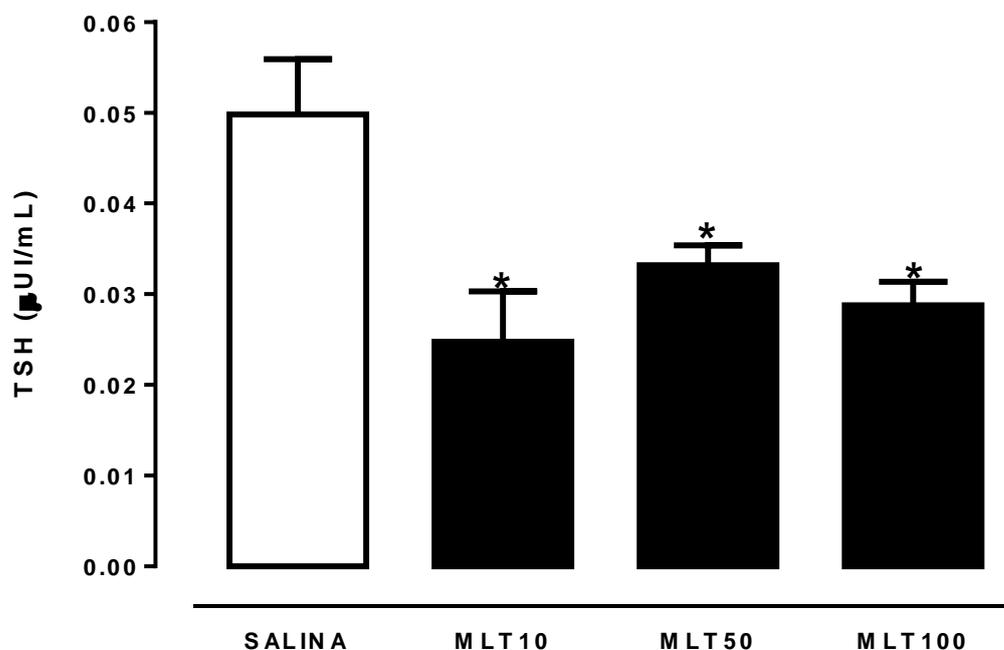


Figura 13. Concentração sanguínea de TSH dos animais após tratamento com MLT. Apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo de animais que recebeu solução salina ($p < 0,01$).

A tireoide tem sua ação regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, iniciada pela secreção hipotalâmica de TRH, que é um tripeptídeo que atua como neurotransmissor promotor da secreção de TSH pela hipófise anterior, hormônio estimulador da secreção dos hormônios tireoidianos. A secreção de

T3 e T4 retroalimenta negativamente o hipotálamo e a hipófise para que não ocorra excesso ou falta desses hormônios (GUYTON & HALL, 2012).

A secreção dos hormônios tireoidianos ocorre em quantidades diferenciadas. O T4 é secretado 20 vezes mais que o T3, sendo este último o principal responsável pela maioria das funções do organismo, além de ser 4 vezes mais potente que o T3. Cerca de um terço do T4 secretado é convertido no fígado e nos rins em T3, o qual tem 10 vezes mais afinidade com as proteínas sanguíneas e receptores celulares para hormônios tireoidianos. Este mecanismo endócrino de controle da função tireoidiana também facilita a adaptação do organismo às mudanças das condições ambientais, incluindo a escassez de alimentos e um ambiente frio (DAVIES, BLAKLELEY; KIDD, 2002).

O eixo endócrino tireoidiano também é afetado por outras condições adversas, como a infecção, mas os mecanismos centrais que mediam a supressão da TRH hipofisiotrópica podem ser fisiopatológicos (BERNE, 2004). Os hormônios tireoidianos são considerados essenciais para a manutenção da qualidade de vida, dadas as funções reguladoras diretas do metabolismo de vários tecidos apresentada anteriormente (WIDMAIER, RAFF, STRANG, 2013; NUNES, 2003).

As alterações na tireoide podem ocorrer por predisposição genética, que aumenta as chances das pessoas desenvolverem um distúrbio desta glândula, ou por carência ou excesso de iodo. Estes desequilíbrios podem manifestar-se como hiper ou hipotireoidismo. Essas condições também podem ser desencadeadas por vários agentes toxicantes, quando da exposição aguda ou crônica, que podem gerar alterações na função da tireoide (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2016). As doenças da tireoide incluem a formação de nódulos tireoidianos, bócio, câncer, tireoidite, doença hipofisária causada pela secreção anormal do TSH e outras anormalidade na função tireoidiana que surgem, tais como na gravidez, pós-parto e em recém-natos (LOPES, 2002).

Outro fator que pode levar a alterações no sistema endócrino tendo como órgão alvo principal a tireoide, segundo estudo de Reed & Rubin (2014), é o MLT que através da dessulfuração oxidativa, é convertido em malaixon,

que age como inibidor da acetilcolinesterase nos tecidos nervosos, gerando toxicidade pelo acúmulo de acetilcolina nas sinapses, causando hiperestimulação colinérgica. Dada a atuação do excesso de acetilcolina sobre receptores colinérgicos nas células da tireoide, seria possível ocorrer modificação significativa de sua função quando da intoxicação por pesticidas OF.

Buscando esclarecer e minimizar os riscos para a saúde humana e ambiental, os programas de avaliação da segurança química estão sendo reforçados com testes de toxicidade mais especificamente projetados para a detecção de disruptores endócrinos em relação aos agrotóxicos (PICKFORD, 2010).

Para esclarecer o envolvimento do MLT em perturbações da tireoide, verificou-se os efeitos das administrações repetidas de MLT em ratas por um período de 21 dias a fim de avaliar possíveis alterações na função dos hormônios tireoidianos T3 e T4 e do hormônio hipofisário TSH. A administração de MLT nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, promoveu ligeira tendência à elevação dos hormônios T4 e T3, mas que não atingiu significância estatística em relação ao grupo controle. Considerando que o tempo de tratamento foi relativamente pequeno, se for considerado que o consumo via alimentação é crônico e cumulativo, é possível, assim, que a exposição dos animais ao MLT, em dose maior e em período mais prolongado de exposição, possa levar a toxicidade significativa com potencial alteração do funcionamento da tireoide.

Resultado semelhante foi encontrado por Akhtar *et al.* (1996), que investigaram 35 ratos que receberam MLT por gavagem na dosagem de 0,006 mg/kg por 21 dias e não perceberam alteração significativamente estatística na função da tireoide. Isto foi atribuído à possibilidade da dose e do período de tratamento não terem sido suficientes para induzir qualquer alteração da função da tireoide.

Entretanto, no estudo de Yadav e Singh (1986) realizado com peixes-gato de água doce do gênero *Heterofneustesfossilis* foi observado um nível reduzido de T4 no plasma após 4 semanas de exposição ao MLT nas concentrações de 10 e 20 ppm; e baixa conversão do T4 em T3 sugerindo que

houve influência importante sobre a glândula tireoide, possivelmente reduzindo a síntese e liberação dos hormônios. O trabalho de Lal, Sarang & Kumar (2013), evidenciou que a exposição de peixes-gato ao MLT por 30 dias resultou em redução dos níveis de T3, T4, hormônio de crescimento, testosterona e outros hormônios durante todas as fases reprodutivas estudadas, sugerindo que a influência do MLT como desregulador endócrino pode afetar vários sistemas hormonais. Isto é, a função tireoidiana pode não ter sido tão influenciada no presente estudo e na espécie de roedores empregada, mas os resultados de estudos em peixes sugerem que o potencial para essa influência não é negligenciável.

Assim, é possível que a função tireoidiana seja influenciada tanto para mais quanto para menos frente à exposição ao MLT, conforme a espécie estudada, doses utilizadas e tempo de exposição. No presente estudo, foi verificada tendência de elevação dos níveis de T3 e T4, mas que não atingiu relevância estatística. Possivelmente, a mudança das condições de teste poderia conduzir a alterações estatisticamente significativas, posto que a dose administrada, a via de administração e o prazo de exposição influenciam diretamente o grau de toxicidade sobre o organismo.

A toxicidade do MLT foi evidenciada no trabalho de Reuber (1985), que verificou que o malaoxon, nas doses 50 e 100mg/kg em 56 dias, causou, em um total de 344 ratos (machos e fêmeas incluídos) neoplasias em órgãos endócrinos, cérebro, fígado e da medula adrenal. O estudo Satar *et al.* (2008) descreveu também decréscimo na produção dos hormônios tireoidianos T3, T4 e TSH em ratos que receberam via oral dose única de 30mg/kg de metamidofós (dose letal), outro pesticida OF inibidor da acetilcolinesterase. Em uma revisão sobre efeitos do OF clorpirifós por Eaton *et al.* (2008), ratas grávidas tratadas diariamente com doses de 7mg/kg/dia durante gestação levou à desregulação do eixo hormonal da tireoide nos filhotes.

No presente estudo, foi percebida redução significativa dos níveis de TSH após exposição a todas as doses de MLT. Contudo, o decréscimo observado não foi acompanhado de elevação relevante dos níveis de T3 e T4, o que sugere que a diferença encontrada não parece ter relação com a regulação da secreção exercida por retroalimentação entre TSH e T3 e T4,

voltando o raciocínio para a interpretação da elevação do TSH para lesão direta da hipófise causada pelo MLT. Contudo, não foi realizada análise histológica morfológica da hipófise dos animais para confirmação dessa inferência neste trabalho, cujo foco principal era sobre a tireoide. Estendendo a interpretação deste resultado para proporções clínicas, é possível levantar a hipótese de que os animais expostos ao MLT no tempo e doses utilizados neste estudo possam aproximar-se de situações de desvios subclínicos tireoidianos. Considerando esse cenário, a exposição alimentar aos resíduos de OF nos alimentos em longo prazo pode ter ligação com a apresentação de desvios tireoidianos subclínicos.

A redução de TSH desacompanhada de alterações significativas dos níveis de T3 e T4 não suportam a instalação de um quadro de hipotireoidismo secundário, entretanto levantam a possibilidade do surgimento de hipofisite, disfunção hipofisária que pode afetar diferentes tipos de células dessa glândula e, assim, promover queda da secreção dos respectivos hormônios sintetizados (FUKUOKA, 2015), podendo haver redução dos níveis de hormônio de crescimento, prolactina, adrenocorticotrofina e uma das formas de diagnosticar a hipofisite é a mensuração da alteração também nos tireotrofos, que são as células secretoras de TSH e apresentam-se afetadas em 13 a 49% dos casos de hipofisite inflamatória ou infecciosa (KENNETH, 2005; MESQUITA *et al.*, 2009).

Dado o envolvimento da hipófise na secreção do hormônio de crescimento, da prolactina, do TSH, dos hormônios foliculo estimulante e luteinizante e da adrenocorticotrofina, o envolvimento do MLT em promoção de hipofisite é tão quanto ou mais preocupante do que sua possível influência sobre a função tireoidiana, posta a variedade de funções que seriam afetadas mediante instalação de hipofisite por esse toxicante (ABE, 2008; FARLONI *et al.*, 2014; FUKUOKA, 2015).

A extrapolação do risco observado nos animais para a saúde pública se for considerado que a possível exposição continuada, mesmo em doses pequenas, ao longo de toda uma vida aos OF por meio da alimentação, posto eles são largamente utilizados de forma sistemática durante o cultivo, armazenamento, conservação dos alimentos, é altamente digna de

investigação. No Brasil, a população exposta e seus descendentes podem estar sujeitos a diferentes tipos de prejuízos orgânicos, visto que no Brasil existem aproximadamente 300 princípios ativos em 2 mil formulações comerciais diferentes utilizados de diversas formas (GHISELLI & JARDIM, 2007 ; BERGMAM *et al.*, 2012). Em relação aos mecanismos envolvidos na causalidade das perturbações tireoidianas associados com mudanças ligeiras nos níveis de T4 e/ou de TSH ainda não são bem compreendidos (SURKS *et al.*, 2004). Contudo, esta não pode ser negligenciada, pois a exposição continuada certamente poderá ter consequências significativas em termos de saúde pública (HENNESSEY & ESPAILLAT, 2015).

Kandarakis *et al.*, (2009) sugerem que qualquer nível de exposição aos OF pode causar anormalidades endócrinas ou reprodutivas, especialmente se a exposição ocorrer durante uma janela de desenvolvimento crítico, como na infância. Isso é condizente com o descrito por Furlong *et al.*, (2005) e Fontenela (2010), que apontaram para maior toxicidade em crianças com menos de dois anos, devido a menor atividade das enzimas chamadas fosfodiesterases, capazes de hidrolisar os OF, permitindo assim que ocorra maior toxicidade frente à exposição a esses compostos.

A maioria dos estudos epidemiológicos associou a exposição a inseticidas agrícolas com pequenas mudanças na função tireoidiana. Entretanto, pode-se considerar que, dada a quantidade de pessoas sujeitas a tais alterações pela exposição por meio de resíduos destes produtos nos alimentos, além das que também por contato direto no caso dos trabalhadores na agricultura, as condições subclínicas de desvios tireoidianos podem resultar em maior incidência de problemas relacionados a tireoide no futuro além de hepatotoxicidade e danos renais, entre outros.

Em termos de saúde pública, os hormônios tireoidianos são de importância especial no desenvolvimento fetal, de modo que sua ausência causa redução de crescimento e diferenciação neuronal no córtex, no hipocampo e no cerebelo. Tanto que estudos epidemiológicos indicaram que mesmo uma redução relativamente pequena no nível de T4 de uma gestante pode conduzir a déficit cognitivo de seus filhos (HADDOW *et al.*, 1999; POF *et al.*, 2003; BERBEL *et al.*, 2009; COOPER, 2011). Logo, pode ser que os

desvios de função tireoidiana provocados direta ou indiretamente pelos OF possam interferir até mesmo sobre a cognição dos descendentes.

Outra preocupação altamente relevante é o efeito potencial dos pesticidas de promover câncer da tireoide. Dois estudos populacionais em mulheres suecas expostas a produtos agrícolas observaram risco maior de desenvolver esse tumor (PUKKALA *et al.*, 2009). Mais recentemente, MLT foi implicado em risco duas vezes maior de desenvolvimento de tumor da tireoide em borrifadores deste envolvidos em estudo prospectivo de saúde dos agricultores (LERRO *et al.*, 2015). Embora sugestivas, essas considerações ainda são inconsistentes e necessitam de mais esclarecimentos.

Conforme publicação no Diário de Justiça do Estado da Bahia (2012), no período de 2009 a 2010 houve aproximadamente 100 pedidos de aposentadoria por invalidez devido à intoxicação crônica pelo MLT. Foram registrados 9.914 casos de intoxicação por inseticidas nos 31 dos 37 Centros de Informações e Assistência Toxicológica espalhados pelo país em 2006. Destes casos, 190 (1,9%) resultaram em mortes (OLIVEIRA, 2009), o que ilustra o impacto relevante em termos de oneração do Sistema Único de Saúde em relação a custo e ocupação hospitalar, que poderiam ser atenuados desde que a prevenção da exposição em condição intoxicante fosse realizada.

A ANVISA (2012) preconiza uma IDA de MLT de 0,3 mg/kg/dia. Considerando que a exposição ao MLT pode dar-se diariamente, e na forma de diferentes tipos de alimentos, em quantidade que exceda a IDA sem que o sujeito tenha conhecimento de que está fazendo-o, encontra-se assim em risco importante para promoção de toxicidade em longo prazo sobre a função tireoidiana e hepática.

Com o intuito de fiscalizar e controlar os níveis de resíduos, a ANVISA avaliou os níveis de agrotóxicos nos alimentos de origem vegetal e identificou a existência de várias amostras insatisfatórias: em 2011, do total de amostras, aproximadamente 26% excediam os valores aceitáveis; em 2012, 35% e 30,8% dos casos irregulares de 2012 incluíam níveis inaceitáveis de inseticidas OF (ANVISA, 2013). Já foram encontrados resíduos de MLT em quantidade além da permitida em grãos de milho armazenados no estudo de Sampaio *et al.* (1988). Em 2007, no município

de Chahuites (México), foi analisada a quantidade de resíduo de MLT utilizado na pulverização da manga Tommy Atkins, e foi detectada presença elevada deste OF em 83,3% das frutas (FUENTES-MATUS *et al.*, 2010).

Na Índia, também foi verificado, por meio de análise de resíduos de pesticidas em amostras de frutas de maçã, uva, banana, mamão, limão e coco que existiam níveis muito elevados de MLT. Para uma IDA de 0,02 mg/kg/dia, foram encontrados resultados de amostras de mamões e maçãs apresentando 4,34 mg/kg e 2,46mg/kg de MLT (KANNAUJIA *et al.*, 2012). Os autores verificaram que, de nove inseticidas avaliados, a maioria das frutas da amostra apresentou nível muito alto de MLT, recomendando a redução da ingestão destes alimentos pelo consumidor, e a realização de uma lavagem mais cuidadosa dos alimentos antes de consumir.

A alimentação faz parte da vida do ser humano e, para tal, a escolha dos alimentos faz a diferença na garantia da saúde, pois para obter os benefícios que estes proporcionam ao organismo, devem vir de uma fonte de produção baseada na defesa da biodiversidade de espécies, valorizando uma agricultura mais sustentável, mantendo o equilíbrio do ambiente, para que estes possam ser apreciados com a maior riqueza de seus sabores, aromas apresentações, e mais principalmente, livres de contaminantes (MARINHO, 2015).

De acordo com Higashi (2002), uma pessoa consome aproximadamente 25 toneladas de alimentos ao longo de 70 anos de vida e, por isso, doses mesmo pequenas de contaminantes ingeridos neste período podem ser cumulativas e gerar danos ao organismo de modo a comprometer a homeostasia. Sarigiannis & Hansen (2012) descrevem que os sintomas podem aparecer em longo prazo e é de difícil isolamento do agente causador, devido ao uso associado de vários inseticidas, o que potencializa a toxicidade e torna complicada a compreensão de qual agente afetou qual órgão, em que extensão e como o fez. Desse modo, é crucial a reflexão acerca da prevenção da instalação desses danos por meio da redução de exposição aos agrotóxicos.

Para ilustrar à exposição crônica ao MLT mesmo que em pequenas doses, com base no Limite máximo de resíduos do MLT nos alimentos e IDA para humanos de 0,3mg/kg., foi realizado a simulação do consumo alimentar

de uma refeição dia, de uma pessoa com 60 kg . Verificou que sua exposição ao MLT via alimentação de acordo com a IDA deveria ser de 1,8mg/kg, para não haver prejuízos a saúde.

Porém em uma refeição contendo: 200gr de arroz onde LMR é de 8mg/kg poderá ter 1,6mg MLT, 5 folhas de alface LMR é 8 mg/kg 0,04mg MLT, 200gr de feijão LMR 8mg/kg 1,6mg de MLT, 80 gr milho com LMR 8 mg/kg 0,64mg MLT, 100gr de pão LMR trigo 8 mg/kg 0,8mg MLT, 50gr Brócolis LMR 5mg/kg 0,25mg MLT, 2 laranjas (160gr) LMR 4 mg/kg 0,64mg MLT, 2 tomates (240gr) LMR 3mg/kg 0,72 mg/kg, 100 gr repolho LMR 1mg/kg 0,1mg/kg., couve 240 g LMR 3,0 0,72mg MLT, pepino 240 g LMR 3,0 0,72mg MLT, pêssigo 160gr LMR 6,0 0,96mg MLT, total de resíduos do MLT nesta refeição de 8,91mg/kg, porém se esta refeição for repetida 2 vezes ao dia atingiria o valor de 17,82mg/kg de resíduos do MLT no alimento, se aproximaria do valor da IDA 18mg/kg, valor este que segundo Brasil (2010, 2007), não gera prejuízos a saúde deste consumidor, mesmo que esta ingestão ocorra diariamente.

Levando assim a uma reflexão sobre os diversos problemas que podem ser gerados pelo consumo crônico deste OF contido nos alimentos e que também podem ser agravado pela sua conjugação com os outros agrotóxicos utilizados nesta mesma plantação, com igual ou maior potencial de interferência no equilíbrio do metabolismo (ADAPAR, 2012, BRASIL, 2012).

Para tal, faz-se necessária a busca constante por alternativas de produção dos alimentos de maneira sustentável, com a utilização equilibrada dos recursos naturais, e dos produtos para manutenção desta produção, tendo como princípio a conservação da saúde das gerações atuais e dos seus descendentes que também serão beneficiados. Conforme destaca Marinho (2015), a projeção do aumento da população do planeta para 9 bilhões de habitantes em 2050, e exigirá o aumento da produção e da qualidade agrícola em níveis muito superiores aos que se tem hoje para alimentar todos com carne, fibras e verduras. Assim, planejar como lidar com esse desafio em um planeta com clima cada vez mais instável e com limitação da expansão das áreas plantadas, considerando também a redução do uso de pesticidas para

diminuir a toxicidade tanto para os seres humanos quanto para o ecossistema é fundamental para o desenvolvimento sustentável.

6 CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste estudo permitem inferir que o tratamento com MLT nas doses e período realizados não modificaram significativamente o nível de hormônios tireoidianos. Contudo, houve elevação significativa do nível de transaminases hepáticas, que ilustra a hepatotoxicidade do composto nas doses de 50 e 100 mg/kg. Não houve alteração significativa do nível sanguíneo de ureia ou de creatinina dos animais durante o prazo de exposição, sugerindo que não ocorreu nefrotoxicidade relevante no período de administração e doses aplicadas.

Foi observada redução significativa do nível sanguíneo de TSH para todas as doses aplicadas. Esse dado é sugestivo de que houve toxicidade direta do MLT sobre a hipófise, posto que a queda de TSH não ocorreu acompanhada de alterações significativas dos hormônios tireoidianos que pudessem ser inter-relacionadas com distúrbio sobre a retroalimentação de controle da secreção de hormônios entre tireoide e hipófise. É possível que períodos maiores de exposição e administração de doses diferentes possam resultar em desfechos distintos.

É importante ressaltar que as substâncias tóxicas não têm efeitos nocivos apenas sobre a saúde humana, mas podem causar desequilíbrio ecológico nos vários sistemas existentes em rios, lagos, oceanos, mares, estuários, alagados, florestas e solos e ar, que podem impactar indiretamente sobre o organismo humano além do ecossistema, sendo imprescindível compreender com riqueza de detalhes a inter-relação entre a exposição ambiental e humana no sentido de prevenir a toxicidade.

7 REFERÊNCIAS

ABE, T. Lymphocytic infundibulo-neurohypophysitis and infundibulo-panhypophysitis regarded as lymphocytic hypophysitis variant. **Brain Tumor Pathology**, v.25, n.2, p 59-66, 2008.

ABENSUR, H. *et al.* Biomarcadores na Nefrologia. **E-book, Sociedade Brasileira de Nefrologia**, 2015, 110p.

ADAPAR. Agência de Defesa Agropecuária do Paraná. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **MLT 500 ec cheminova Registro sob nº 01598705**. 2012. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=198>. Acesso em: 03 mai. 2015.

ADEVA, M.M. *et al.* Ammonium metabolism in humans. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.61, n.11, p.1495-1511, 2012.

AIRES, M.M. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, 1335p.

AJITH, T.A.; USHA, S.; NIVITHA, V. Ascorbic acid and α -tocopherol protect anticancer drug cisplatin induced nephrotoxicity in mice: a comparative study. **Clínica Chimica Acta**, v.375, n.1, p.82-86, 2006.

AKHTAR, N. *et al.* Insecticide-induced changes in secretory activity of the thyroid gland in rats. **Journal of Applied Toxicology**, v.16, n.5, p.397-400 1996.

AL-ATTAR, A.M. Physiological and histopathological investigations on the effects of α -lipoic acid in rats exposed to malathion. Hindawi Publishing Corporation. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.1, n.1, p.1-8, 2010.

AMACHER, D.E. Serum transaminase elevations as indicator of hepatic injury following the administration of drugs. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.27, n.2, p.119-130, 1998.

ANDEF. Associação Nacional de Defesa Vegetal. Glossário agrosustentável. **TEIA Editorial**, v.1, n.1, p. 30, 2015. Disponível em:

http://www.andefedu.com.br/files/arquivos/Glossario_Andef_1.pdf. Acesso em: 10 abr. 2016.

ANDRIGHETTI, M.T.M. *et al.* Avaliação do efeito do inseticida malathion aplicado sob a forma de ultra baixo volume com equipamentos portátil e pesado sobre *Aedes aegypti* (díptera: culicidae). **Revista de Patologia Tropical**, v.42, n.1, p.81-95, 2013.

APTE, U.; KRISHNAMURTHY, P. Detoxification Functions of the Liver. In: MONGA, S.P.S. **Molecular Pathology of Liver Diseases**. v.5, n.1, p.147-163, 2011.

ARAUJO, F. *et al.* Proposta de metodologia para tratamento individualizado com iodo-131 em pacientes portadores de hipertireoidismo da doença de Graves. **Radiologia Brasileira**, v.40, n. 6, p.389-395, 2007.

BAHN, R.S. *et al.* Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of the american thyroid association and american association of clinical endocrinologists. **Thyroid**, v.21, n.6, p.593-646, 2011.

BANERJEE, U.C. *et al.* Thermostable alkaline protease from *Bacillus brevis* and its characterization as a laundry detergent additive. **Process Biochemistry**, v.35, n.1, p.213-219, 1999.

BARATA, R.B. Desigualdades Sociais e Saúde. In: CAMPOS, G.W.S *et al.* **Tratado de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 457-486, 2006.

BARBOSA, L.C. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Minas Gerais: UFV, 2004. 1425p.

BARBOSA, F.C.P. *et al.* Cuidados pré-operatórios em hepatopatas. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.56, n.2, p.222-226, 2010.

BARROS, E. **Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamento**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

BASIRI, S. *et al.* Improvement by *Satureja khuzestanica* essential oil of malathion-induced red blood cells acetylcholinesterase inhibition and altered hepatic mitochondrial glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate

carboxykinase activities. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.89, n.2, p.124-129, 2007.

BASTOS, M. *et al.* **Biomarcadores na Nefrologia**. E-book, editor Hugo Abensur Professor Livre-Docente de Nefrologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Roche Diagnóstica Brasil Ltda, 2011 p 2,4. Disponível em: <http://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>. Acesso em: 06 out. 2015.

BERGMAN, A. *et al.* State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012: an assessment of the state of the science of endocrine disruptors prepared by a group of experts for the United Nations. **Environment Programme and World Health Organization**, v.1, n.1, p.1-30, 2013.

BERNE, R.M. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

BOCHNER, R. Sistema nacional de informações tóxico-farmacológicas sinitox e as intoxicações humanas por agrotóxicos no Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.12, n.1, p.73-89, 2007.

BOSCO, C. *et al.* Renal Effects OF Chronic Exposure to Malathion in Octodon degus. **Biochemical Physiology**. v.118, n.2, p.247-253, 1997.

BRAIBANT, M.E.F.; ZAPPE, J.A. A química dos agrotóxicos. **Química e Sociedade**, v.34, n.1, p.10-15, 2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Lei N° 7802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, experimentação, produção, embalagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, importação, exportação, destino final de resíduos e embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm. Acesso 10 mar. 2015

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução N°899, de 29 de maio de 2003. **Dispõe sobre a classificação dos agrotóxicos**. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf. Acesso em: 20 fev. 2015

BRASIL.Governo de Santa Catarina. LEI Nº 11.069, de 29 de dezembro de 1998. Dispõe sobre o controle da produção, comércio, uso, consumo, transporte e armazenamento de agrotóxicos, seus componentes e afins no território do Estado de Santa Catarina e adota outras providências.Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/fiscalizacao/files/2012/08/LEI-N-11069-de-29-de-dezembro-de-1998.pdf>. Acesso 30 jun. 2015.

BRASIL. Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, **Portaria nº 321, de 28 de julho de 1997**. Normas gerais para registro de desinfetantes domissanitários.Disponível em: <http://www.pragas.com.br/legislacao/bancodedados/port321-97.php>. Acesso 28 jun. 2015.

BRASIL. Presidência da República Casa Civil Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006**. Lei orgânica de segurança alimentar e nutricional (LOSAN).Disponível em: <http://www4.planalto.gov.br/consea/publicacoes/cartilha-losan-portugues>. Acesso 02 jul.2015.

BRASILa. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Reavaliação de agrotóxicos: 10 anos de proteção a população. **ANVISA Publica - Notícias da ANVISA** (online), Brasília, 2 de abril de 2009. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/020409.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2015.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gestão 2005-2010 principais realizações**. Brasília: ANVISA, 1 ed, p 236, 2010. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/281258/308532/Relatorio_5_anos_DEFINITIVO.pdf/857a85f9-ab6e-4358-b67c-1f0b81bee7d1. Acesso em: 18 abr. 2015.

BRASIL, ANVISA. **A regulação e o mercado de agrotóxicos no Brasil**. I Semana de vigilância Sanitária no Congresso Nacional. A ANVISA e o Desenvolvimento Social e Econômico no Brasil, 2012. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/semanadevisa/doc/anvisadebate.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2015.

BRASILa. ANVISA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA)**: relatório de atividades de 2011 e de 2012. Brasília: p 45,

2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/duvidas-sobre-agrotoxicos-em-alimentos>. Acesso em: 9 jun. 2015.

BRASILb. Ministério Público do Estado do Espírito Santo. Centro de Apoio Operacional de Defesa do Meio Ambiente, de Bens e Direitos de Valor Artístico, Estético, Histórico, Turístico, Paisagístico e Urbanístico – CAO. **Manual do Promotor de Justiça do Meio Ambiente**. 2009. DISPONIVEL EM: <https://www.mpes.mp.br/Arquivos/Modelos/Paginas/NoticiaSemFoto.aspx?pagina=1704>. Acesso em: 9 jun. 2015.

BRASILb. IBAMA. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Boletim de Comercialização de Agrotóxicos e Afins de 2000 a 2012**. p.11-12, 2013.

BRASIL. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Atlas de Saneamento e Saúde**. Rio de Janeiro, p 268, 2011. Disponível em: <http://www.terrabrasil.org.br/ecotecadigital/pdf/atlas-de-saneamento-2011.pdf>. Acesso 11 jul. 2015

BRENTA, G. *et al.* Diretrizes clínicas práticas para o manejo do hipotireoidismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.57, n. 4, p. 265-291, 2013.

CAMPOS, A.V. **Os desafios da ecologia social frente ao aquecimento global**. Complexidade e conhecimento; tempo e espaço de educação. Frederico Westphalen: URI, v.1, n.1, p.1-8. 2008.

CARNEIRO, F.F. *et al.* Dossiê ABRASCO: Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **Expressão Popular**, v.1, n.1, p. 1-624, 2015.

CASTRO, V.L.S.S. Uso de Misturas de Agrotóxicos na Agricultura, e Suas Implicações Toxicológicas na Saúde. *Jornal Brasileiro Sociedade Ecotoxicológica*, v. 4, n. 1-3, p 87-94, 2009.

CECCHI, A. *et al.* Environmental exposure to organophosphate pesticides: assessment of endocrine disruption and hepatotoxicity in pregnant women. **Ecotoxicol Environ**, v. 80: n.1, p 280-287, 2012.

CUNHA, P.R. A relação entre meio ambiente e saúde e a importância dos princípios da prevenção e da precaução. **Revista Jus Navigandi**, Teresina, v.10, n.633, 2005. Disponível em: <<https://jus.com.br/artigos/6484>>. Acesso em: 20 ago. 2015.

CODEX ALIMENTARIUS. Codex pesticides residues in food online database. **Internacional food standards**. 2015. Disponível em: www.fao.org-fao-who-codexalimentarius-standards-prestes-en.2015. Acesso em: 10 ago.2015

COOPER, A.J.L. 13N as a tracer for studying glutamate metabolism. **Neurochemmistry Internacional**, v.59, n.4, p.456-464, 2011.

DAVIES, A.; BLAKLELEY A. G.H.; KIDD C. **Fisiologia Humana**. 1. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2002, 400p.

DELGADO, E.H. *et al.* Mitochondrial respiratory dysfunction and oxidative stress after chronic MLT exposure. **Neurochemical Resourch**, v.31, n.1, p.1021-1025, 2006.

DITTRICH, S. *et al.* Associação entre gradiente de pressão portal e ascite em pacientes com cirrose. **Arquivo de Gastroenterologia**, v.47, n.2, p.174-177, 2010.

DUARTE, Marise Costa de Souza. **Meio ambiente sadio: direito fundamenta em crise**. 1º Edição., vol.3., Curitiba: Juruá, 2007. p. 86

ELZOGHBY, R. *et al.* Protective role of vitamin c and green tea extract on malathion-induced epatotoxicity and nephrotoxicity in rats. **American Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.9, n.3, p.177-188, 2014.

EATON, D. *et al.* Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. **Critical Reviews in Toxicology**, v.28, n. 2, p.1-125, 2009

EJZENBERG D.; KIMURA E.T. Evaluation of apoptosis occurrence in the thyroid follicular cells of rat after stimulation followed by supression of endogen thyreotropic hormone. **Revista Medical**, v.79, n.2/4, p 36-44, 2000.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of Food And Agriculture. 2013. Disponível em <http://www.fao.org/publications/sofa/2013/en/>. Acesso em: 22 jun. 2015.

FALORNI, A. *et al.* Diagnosis and classification of autoimmune hypophysitis. **Revista Autoimmun**, v.13, n.4, p.12-16, 2014.

FERMAM, R.K.S.; ANTUNES, A.M.S. Uso de defensivos agrícolas, limites máximos de resíduos e impacto no comércio internacional: estudo de caso. **Revista de Economia e Agronegócio**, v.7, n.2, p.197-214, 2009.

FRÉCHOU, C. *et al.* $^{129}\text{I}/^{127}\text{I}$ ratio measurements in bovine thyroids from the north cotentin area (France). **BAER Conference**, p.1-5, 2002.

FLUENTES-MATUS *et al.* Determination of residues of malathion and malaoxon in mango varieties ataulfo and tommy atkins produced in chahuites, axaca. **Agrociência**, v. 44, n.2, p.1-223. 2010.

FOX, S.I. **Fisiologia Humana**. 7.ed. São Paulo: Manole, 2007. 407p.

FUKUOKA, H. Hypophysitis. **Endocrinology and Metabolism Clinics**, v.1, n.44, p.143–149, 2015.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v.30, n.3, p.695-706, 2007.

GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Tratado de Medicina Interna**. 23.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009, 1087p.

MCANDREWS, J.M.; WU, J. Introduction to the endocrine System Part 2: Physiology. **AMWA JOURNAL**, v.28, n.2, 2013.

GUYTON, A.C.; HALL, J. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012, 946p.

GUYTON, K. *et al.* Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion,

diazinon, and glyphosate. **The Lancet Oncologia**, v.112, n.5, p.1-8, 2015.

GUILOSKI, I.C. Atividade da colinesterase em cérebro e músculo de *Corydoras paleatus* (Pisces, Teleostei) expostos ao carbaril. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambiental**, v.8, n.4, p.461- 468, 2010.

HIGASHI, T. Agrotóxicos e a saúde humana. **Agroecologia Hoje**. v.2, n.12, p. 5-8, 2002.

HODGSON, E. **A textbook of modern toxicology**. 4 ed. North Carolina: Wiley, 2010.

IBRAHIM, A. *et al.* Evaluation of sub-chronic chlorpyrifos poisoning on immunological and biochemical changes in rats and protective effect of eugenol. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.2, n.6, p.51-61, 2012.

INOUEA, L.A.S. *et al.* Avaliação morfológica do fígado e do pulmão pós intoxicação por organofosforado em ratos wistar. **Uniciências**, v.18, n.2, p.103-109, 2014.

JARDIM, I.C.S.F.; ANDRADE, J.A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque as maçãs. **Química Nova**, v.32, n.4, p.996-1012, 2009.

JUNIOR, J.E.R. Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.26, n.3, p.1-3, 2004.

KALENDER, S. *et al.* Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.2, p.633-638, 2010.

KANDARAKIS, D. *et al.* Endocrine-disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement. **Endocrine Reviews**, v.30, n.4, p.293–342, 2009.

KAYHAN, F.E. Biochemical evidence of free radical-induced lipid peroxidation for chronic toxicity of endosulfan and malathion in liver, kidney and gonadal tissues of wistar albino rats. **Fresenius Environmental Bulletin**, v.17, n.9, 2008.

KENNETH M.L. Inflammatory and Infectious Processes Involving the Pituitary Gland. **Lippincott Williams & Wilkins**, v. 16, n. 4, p.1-306, 2005.

LAL, B.; SARANG, M.K.; KUMAR, P. Malathion exposure induces the endocrine disruption and growth retardation in the catfish, *Clarias batrachus* (Linn.). **General and Comparative Endocrinology**, v.181, n.1, p.139-145, 2013.

LAMB, E. Assessment of kidney functions in adults. Laboratory investigations. **Medicine**, v.39, n.6, p.306-311, 2011.

LASRAM, M.M. *et al.* Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult wistar rats. **Journal of Hazardous Materials**, v.163, n.2, p.1052–1055, 2009.

LATORRACA, A. *et al.* Agrotóxicos utilizados na produção do tomate em Goiânia e Goianópolis e efeitos na saúde humana. **Comunicação em Ciências da Saúde**, v.19, n.4, p.365-374, 2008.

LILLIE, E.L. *et al.* Reference values for young normal sprague-dale rats: weight gain, hematology and clinical chemistry, **Human & Experimental Toxicology**, v.15, n.8, p. 612-616, 1996.

LOPES, H.J.J. Função tireoidiana: principais testes laboratoriais e aplicações diagnósticas. **Gold Analisa Diagnóstica Ltda**, 2002. 30p.

LOPES, M.H.C. Terapia com para a resolução do hipertireoidismo doença de graves: seleção da dose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.51, n.7, p.1031-1033, 2007.

MARTINS, M.J. **Principais Funções do Fígado**. Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL) 2012.

MAIA, A.I. *et al.* Consenso brasileiro para o diagnóstico e tratamento do hipertireoidismo: recomendações do Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.57, n.3, 2013.

MARASCHI, L. **Avaliação do Grau de Contaminação por Pesticidas na Água dos principais rios formadores do Pantanal Mato-Grossense.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Saúde e Meio Ambiente. Departamento de Saúde Coletiva. Universidade Federal de Mato Grosso. 2003. 88p.

MARINHO J.A. ANDEF. Glossário Agrosustentável. **TEIA Editorial**, v.1, n.1, 2015. Disponível em: http://www.andefedu.com.br/files/arquivos/Glossario_Andef_1.pdf. Acesso em: 01 dez. 2015.

MAMUN, M. *et al.* Histological study of the effect of malathion on liver and kidney tissues of mice model Int. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.6, n.3, p.1043-1048, 2015.

MESQUITA *et al.* Hipofisites: Quando Suspeitar, Diagnosticar e Como Tratar. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v.1, n.1, p.1-70, 2009.

MILARÉ, E. **Direito do Ambiente: doutrina, jurisprudência e glossário.** 4 ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2005, 242p.

MOSSALAM, H.H. *et al.* Biochemical and ultra-structure studies of the antioxidant effect of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* on the nephrotoxicity induced by organophosphorous pesticide (malathion) on the adult albino rats. **Life Science Journal**, v.8, n.4, p.561-574, 2011.

MORAES, C.A., COLICIGNO, P.R.C. Estudo morfofuncional do sistema renal. **Anuário da Produção Acadêmica Docente**, v.1, n.1, p.161-167, 2007.

MOTA, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**, Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES). Sindicato Nacional dos Editores de Livros – RJ, 1997, 292p.

MULLER, A.F. *et al.* Thyroid function disorders-Guidelines of the Netherlands Association of Internal Medicine. **Netherlands Journal of Medicine**, v.66, n.3, p.134-142, 2008.

NEVES, C. *et al.* Doença de Graves. **Arquivos de Medicina**, v. 22, n. 4/5, p. 137-146, 2008.

NUNES, M.T. Hormônios tiroideanos: mecanismo de ação e importância biológica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.47, n.6, p.639-643, 2003.

NUNES, P.P.; Moreira A. **Fisiologia Hepática**. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. v.1, n.1, p.1-26, 2007.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Relatório Mundial da Saúde, v.1, n.1, p.118, 2010. Disponível em: http://www.who.int/whr/2010/whr10_pt.pdf. Acesso em: 26 out. 2015.

OLIVEIRA, V.; MALDONADO, R.R. Hipotireoidismo e hipertireoidismo: uma breve revisão sobre as disfunções tireoidianas. **Interciência e Sociedade**, v.3, n.2, p.36-44, 2014.

PAROLIN, M.B. *et al.* Insuficiência hepática fulminante por intermação induzida por exercício. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.15, n.3, p. 224-227, 2009.

PEREZ, N.M. *et al.* Aspectos morfológicos e morfométricos do cérebro de ratos na intoxicação crônica pelo organofosforado metamidofós. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.65, n.1, 2006.

PICKFORDE, D.B. Screening chemicals for thyroid-disrupting activity: a critical comparison of mammalian and amphibian models. **Critical Reviews in Toxicology**, v.40, n.10, p.845-892, 2010.

PIGNATI, W.A.; MACHADO, J.M.H.; CABRAL, J.F. Acidente rural ampliado: o caso das "chuvas" de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde - MT. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.12, n.1, p.105-114, 2007.

POSSAMAI, F.P. *et al.* Oxidative stress after acute and sub-chronic alathion intoxication in wistar rats, **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.23, n.1, p.198-204, 2007.

PUKKALA *et al.* Occupation and cancer - follow-up of 15 million people in five Nordic countries. **Acta Oncol.** V.48,n5, p. 646-790 2009,

PRADO, F.C.; RAMOS, J.; RIBEIRO DO VALLE, J. **Atualização terapêutica.** São Paulo: Artes Médicas, 2007.

RANJBAR, A.; MOHSENZADEH, F.; BAEERI, M. Effects of vitamin e against malathion-induced mitochondrial dysfunction in rat liver. **Avicenna Journal of Medical Biochemistry**, v.2, n.1, p.1-5, 2014.

REZG, R. *et al.* Évaluation biochimique des dommages hépatiques induits après une exposition subchronique au malathion chez le rat. effets sur les activités de la superoxide dismutase et la catalase en utilisant la technique du *native page*. **Comptes Rendus Biologies**, v.331, n.9, p.655-662, 2008.

REED, N.R; RUBIN, A.L. **Malathion.**_Encyclopedia of Toxicology. 3.ed. 2014, 137p.

REID, J.R.; WHEELER, SF. Hyperthyroidism: diagnosis and treatment. **American Family Physician**, v.72, n.4, p.623-630, 2005.

RIEG, C.E.H. **Consequências da exposição materna à formulação comercial contendo glifosato nos parâmetros bioquímicos e morfológicos em fígado e sangue periférico de ratos imaturos** Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Farmácia. Florianópolis, 2016.

REUBER, M.D. Carcinogenicity and toxicity of malathion and malaoxon, **Environmental Research**, v.37, n.1, p.119-153, 1985.

ROBERTS, C.G.; LADENSON, P.W. Hypothyroidism. **Lancet.** v.363, n.9411, p.793-803, 2004.

SALCIDO, A D.; ARREDONDO, A.A. Liver damage by the interaction of Malathion with cimetidine in rat. **Journal of Life Sciences**, v.7, n.10, p.1053-1056, 2013.

SALAM, A.O. *et al.* New neuroprotective and hepatofrotective effects OF citric acid on acute malathion intoxication Asian Pacific. **Journal of Tropical Medicine**, v.9, p. 1181-1194, 2016.

SAMPAIO, M.J.A. *et al.* RESÍDUOS DE MALATION EM GRÃOS DE MILHO ARMAZENADO **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23 n.9, p.939-942, 1988.

SARIGIANNIS, A.D; HANSEN, U. Considerando o risco cumulativo de misturas de produtos químicos - Um desafio para os decisores políticos. **Saúde Ambiental**. v.11, n.1, p.18, 2012.

SATAR, D. Ultrastructural Changes in Rat Thyroid Tissue After Acute organophosphate Poisoning and Effects of Antidotal Therapy with Atropine and Pralidoxime: A Single-Blind, Ex Vivo Study. **Current Therapeutic research**, v.69, n.4, p.1-342, 2008.

SANTOS, V.M.R. *et al.* Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v.30, n.1, p. 159-170, 2007.

SANTOS, A.A. **Avaliação dos efeitos tóxicos induzidos por malation e malaoxon e a possível proteção por oximas**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Florianópolis, 2013.

SATAR, D. *et al.* Ultrastructural changes in rat thyroid tissue after acute organophosphate poisoning and effects of antidotal therapy with atropine and pralidoxime: a single-blind, ex vivo study. **Current Therapeutic Research**. v.69, n.4, p.1-342, 2008.

SAVOY, V.L.T. Classificação dos Agrotóxicos. **Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.91-92, 2011.

SCORZA JUNIOR, R.P.; NÉVOLA, F.A.; AYELO, V.S. **Avaliação da contaminação hídrica por agrotóxico**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste. 2010, 31p.

SCHINONI, M. I. Fisiologia Hepática. **Gazeta Médica**. Suplemento 1, p.5-9, 2008.

SELMI, S.; EL-FAZAA S.; GHARBI N. Oxidative stress and alteration of biochemical markers in liver and kidney by malathion in rat pups. Slimen. **Toxicology and Industrial Health**, v.31, n.9, p.783-788, 2015.

SEKEROGLU, V.; SEKEROGLU, Z.A.; DEMIRHAN, E. Effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on thyroid hormone levels in rat serum. **Toxicology and Industrial Health**, v.30, n.1, p 40-46, 2014.

SERRANO, A.C.F.F. *et al.* Exposição crônica e risco de contaminação por agrotóxicos em alimentos no Brasil: é possível mensurar?, v.1, n.1, p. 1-12 2013.

SHAYAKUL, C.C.B.; HEDIGER, M.A. The urea transporter family (SLC 14): physiological, pathological and structural aspects. **Molecular Aspects of Medicine**, v.34, n.1, p.313-322, 2013.

SILVA, J.A., **Direito Ambiental Constitucional**. São Paulo: Malheiros Editores, 2002, 20p.

SINGH, A. *et al.* Risk assessment of heavy metal toxicity through contaminated vegetables from waste water irrigated área of Varanasi, India. **Tropical Ecology**, v.51, n.2, p.375-387, 2010.

SOARES, W.L. “Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura” **Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente**. Rio de Janeiro, março de 2010.

SOUZA, J.S. *et al.* Perinatal exposure to glyphosate-based herbicide alters the thyrotrophic axis and causes thyroid hormone homeostasis imbalance in male rats. **Toxicology**, v.377, n.1, p. 25-37, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HEPATOLOGIA. **Hepatotoxicidade: o que é?** 2015. Disponível em: <http://www.sbhepatologia.org.br/artigos?id=52>. Acesso em: 20 mai. 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. **Hipertireoidismo e Hipotireoidismo.** 2016. Disponível em: <http://www.endocrino.org.br/hipertireoidismo-e-hipotireoidismo/>. Acesso em: 5 jun. 2015.

SODRE, F.L. *et al.* Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica e Laboratorial.** v.43, n.5, p.329-337, 2007.

SSEBUGERE, P. *et al.* Organochlorine pesticides in soils from south-western Uganda. **Chemosphere,** v.78, n.1, p.1250–1255, 2010.

STRACCI, L. **Agrotóxicos e a Poluição das Águas.** Fórum de Segurança Ambiental. (Seminário). 2014.

TRAJANO, E. Políticas de conservação e critérios ambientais: princípios, conceitos e protocolos. **Estudos Avançados,** v.24, n.68, p.135-146, 2010.

TOS-LUTY, S. *et al.* Dermal and oral toxicity of MLT in rats. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine,** v.10, n.1, p.101-106, 2003.

UNIDADE DE ENDOCRINOLOGIA E DIABETES. Universidade de Pernambuco. Hospital Agamenon Magalhães. **Protocolo de Hipotireoidismo.** 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Constitution of World Health Organization.** Geneva, v.3, 1946.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Risk management and food safety.** Food and Nutrition Paper. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Rome, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Toxicological profile for MLT.** Agency for toxic substances and disease registry, 2003.

WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K.T.V. **Fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 42p.

YADAV, A.K.; SINGH, T.P. Effect of pesticide on circulating thyroid hormone levels in the freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Environmental Research**, v.39, n.1, p.136-142, 1986.

ZHANG, L.; WANG, G.; ZHU, G. Pubertal exposure to bismethiazol inhibits thyroid function in juvenile female rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.61, n.5, p 453-459, 2009.