



**NOTA TÉCNICA**  
**REAVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO ENDOSSULFAM**

1.	Apresentação e Motivações para Reavaliação.....	2
2.	Introdução.....	4
2.1.	Identidade química e propriedades físico-químicas do endossulfam.....	6
2.2.	Produção e uso.....	7
2.3.	Dados de intoxicações e acidentes envolvendo o endossulfam.....	8
2.4.	Implicações para a saúde ambiental.....	10
2.5.	Impurezas relevantes do ponto de vista toxicológico.....	11
3.	Toxicocinética.....	12
3.1.	Vias de Exposição e Absorção.....	12
3.2.	Distribuição.....	12
3.3.	Meia Vida Biológica e Acumulação.....	13
3.4.	Biotransformação.....	13
3.5.	Eliminação.....	14
4.	Toxicidade do Endossulfam.....	15
4.1.	Toxicidade aguda.....	15
4.1.1.	Intoxicações agudas em seres humanos.....	16
4.2.	Toxicidade subcrônica.....	19
4.3.	Toxicidade crônica, carcinogenicidade e genotoxicidade.....	20
4.4.	Toxicidade reprodutiva e sobre o desenvolvimento.....	25
4.4.1.	Interface entre a desregulação endócrina e toxicidade reprodutiva.....	27
4.5.	Imunotoxicidade.....	29
4.6.	Neurotoxicidade.....	33
4.6.1.	Mecanismo de Ação Neurotóxico.....	33
4.6.2.	Efeitos neurotóxicos e implicações para a saúde.....	34
5.	Interação dos sistemas nervoso, endócrino e imunológico e repercussões sobre a saúde humana.....	36
6.	Aspecto Regulatório – A situação internacional do registro do endossulfam.....	37
7.	Atualização dos dados, estudos e informações após a publicação da Nota Técnica.....	38
7.1.	Toxicidade Endócrina do endossulfam.....	38
7.1.1.	Desregulação endócrina.....	38
7.1.2.	Estudos de ligação e ativação transcricional de receptores andrógenos (RA), de estrógenos (RE) e de progesterona (RP).....	40
7.1.3.	Teste uterotrópico em roedores.....	40
7.1.4.	Interferência com mecanismos de ação não-genômicos mediados por RE.....	40
7.1.5.	Interferência com mecanismos de indução de tumores e interferência com os sistemas imunológico e neurológico.....	42
7.1.6.	Interface da desregulação endócrina com a toxicidade reprodutiva.....	42
7.1.7.	Considerações finais sobre a desregulação endócrina do endossulfam.....	42
7.2.	Situação internacional do endossulfam atualizada.....	43
7.3.	Dados do PARA de 2009.....	47
8.	Considerações Finais.....	48
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

## 1. Apresentação e Motivações para Reavaliação

A Nota Técnica visa cumprir uma das etapas da reavaliação toxicológica, prevista na RDC nº 10/2008 e detalhada na RDC nº 48/2008. Esta nota foi elaborada com o apoio técnico de especialistas da equipe do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ; da Escola Nacional de Saúde Pública da FIOCRUZ; da Universidade Federal do Vale do São Francisco e da Universidade do Rio de Janeiro (UNIRIO).

A partir da data de sua publicação, a mesma ficará em Consulta Pública por 30 dias, conforme disposto pela RDC nº 48/2008 e as contribuições, após consolidação, serão analisadas conjuntamente pela comissão de reavaliação integrada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento).

O controle da produção, da comercialização e do emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e o meio ambiente, é uma incumbência do Poder Público, atribuída pelo artigo 225 da Constituição Federal, regulamentado no caso específico dos agrotóxicos, pela Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989.

De acordo com a Lei nº 7.802/89, os agrotóxicos, como o nome aduz, são substâncias que comportam risco à vida e à saúde, tanto dos trabalhadores expostos a essas substâncias, quanto à dos consumidores de culturas tratadas e população em geral. Estes produtos necessitam de uma detalhada avaliação para obtenção de registro, a qual é procedida pelos Ministérios da Agricultura, da Saúde e do Meio Ambiente, cada um em suas respectivas áreas de atuação.

O legislador reconheceu a possibilidade de efeitos danosos dos agrotóxicos ao estabelecer, no § 6º, do art. 3º, da Lei nº 7.802/89, as proibições de registro<sup>1</sup>. Dessa forma os agrotóxicos, para a obtenção do registro, são avaliados quanto aos aspectos de impactos à saúde humana e ao meio ambiente e de eficácia agrônômica.

A ANVISA é o órgão responsável no âmbito do Ministério da Saúde por avaliar a toxicidade dos agrotóxicos e seus impactos à saúde humana, emitindo um parecer toxicológico favorável ou desfavorável à concessão do registro pelo Ministério da Agricultura. Os estudos exigidos para efetuar a avaliação toxicológica dos agrotóxicos seguem parâmetros e metodologias adotadas

<sup>1</sup> Redação dada pela Lei 7.802/89 - Art. 3º - § 6º - “Fica proibido o registro de agrotóxicos, seus componentes e afins:

- a) para os quais o Brasil não disponha de métodos para desativação de seus componentes, de modo a impedir que os seus resíduos remanescentes provoquem riscos ao meio ambiente e à saúde pública;
- b) para os quais não haja antídoto ou tratamento eficaz no Brasil;
- c) que revelem características teratogênicas, carcinogênicas ou mutagênicas, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica;
- d) que provoquem distúrbios hormonais, danos ao aparelho reprodutor, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica;
- e) que se revelem mais perigosos para o homem do que os testes de laboratório, com animais, tenham podido demonstrar, segundo critérios técnicos e científicos atualizados;
- f) cujas características causem danos ao meio ambiente”.

internacionalmente, em particular pela ONU/OMS – Organização Mundial de Saúde, OECD – Organization for Economic Co-operation and Development, USA/EPA – Environmental Protection Agency e ONU/FAO – Food and Agriculture Organization. A avaliação toxicológica leva também em conta as condições brasileiras de uso e consumo de culturas tratadas com agrotóxicos e o impacto desses produtos na saúde humana de trabalhadores e consumidores.

Uma vez concedido o registro de determinado agrotóxico este possui validade *ad eternum*, sem previsão de qualquer prazo para renovação ou revalidação do mesmo. Entretanto, como o conhecimento técnico científico, sobre os ingredientes ativos e especialmente sobre o surgimento de perigos e riscos associados ao uso, tende a ser desenvolvido a partir da colocação dos agrotóxicos no mercado, a Lei n° 7.802, de 1989 e o Decreto n° 4.074, de 2002 prevêm a reavaliação toxicológica<sup>2</sup>.

Cabe ainda aos três Ministérios, no âmbito de suas respectivas áreas de competência, promover a reavaliação de registro de agrotóxicos, seus componentes e afins quando surgirem indícios da ocorrência de riscos que desaconselhem o uso de produtos registrados ou quando o País for alertado nesse sentido, por organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos (Decreto 4.074, de 2002, Art. 2º, inciso VI).

Em relação aos aspectos toxicológicos, de competência da ANVISA, a reavaliação de agrotóxicos ocorre quando há alguma alteração de perigo ou risco à saúde humana, em comparação aos avaliados durante a concessão de registro. Essas alterações podem ser detectadas através do avanço dos conhecimentos científicos, alertas em função de observações epidemiológicas que apontem a situações não evidenciadas nos estudos experimentais conduzidos em animais de laboratório, entre outras possibilidades.

O órgão federal responsável pelo aspecto a ser reavaliado, neste caso em específico suspeita de efeitos à saúde, diante de alertas ou suspeitas de efeitos adversos que se configuram dentre os proibitivos de registro, foi publicada a reavaliação do endossulfan, cuja análise técnica é o objeto da presente nota.

---

<sup>2</sup> Redação dada pelo Decreto n° 4.074/02 - Art 2º, inciso VI .

“Art. 2o Cabe aos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Saúde e do Meio Ambiente, no âmbito de suas respectivas áreas de competências:

VI - promover a reavaliação de registro de agrotóxicos, seus componentes e afins quando surgirem indícios da ocorrência de riscos que desaconselhem o uso de produtos registrados ou quando o País for alertado nesse sentido, por organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos.”

10) Na Instrução Normativa Conjunta n° 2, de 27 de setembro de 2006 (Art. 1º, incisos de I a III), essa previsão é reforçada, conforme segue:

“Art. 1º As reavaliações dos agrotóxicos, seus componentes e afins serão efetuadas nas seguintes situações:

I - quando ocorrer alerta de organização internacional responsável pela saúde, alimentação ou meio ambiente, da qual o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordo ou convênio, sobre riscos ou que desaconselhem o uso de agrotóxico, componente ou afim;

II - por iniciativa de um ou mais dos órgãos federais envolvidos no processo de avaliação e registro, quando houver indícios de redução de eficiência agrônômica, alteração dos riscos à saúde humana ou ao meio ambiente, e

III - a pedido do titular do registro ou de outro interessado, desde que fundamentado tecnicamente.” (grifado)

## 2. Introdução

O endossulfam foi desenvolvido e introduzido por Farbwerke Hoechst em 1954 (NAQVI; VAISHNAVI, 1993). Trata-se de um agrotóxico<sup>1</sup> de amplo espectro e tem seu uso autorizado, segundo a monografia publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), nas culturas de algodão, cacau, café, cana-de-açúcar e soja. É um inseticida e acaricida do grupo dos organoclorados<sup>2</sup> e subgrupo dos clorociclodienos, de Classe Toxicológica I (extremamente tóxico), juntamente com o aldrin, dieldrin, endrin, heptacloro e clordano.

O Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT) foi o precursor dos organoclorados. Sintetizado por Zeidler em 1874, por seu potente efeito inseticida e baixa solubilidade em água e alta persistência foi a base para o desenvolvimento da síntese química de organoclorados largamente introduzidos em meados da década de 40 do século XX (ANDRADE FILHO; CAMPOLINA; DIAS, 2001; FLORES et al. 2004), amplamente utilizados na agricultura e na saúde pública (OGA, 2003), no combate à malária e prevenção de epidemias de tifo pela sua ação inseticida sobre os vetores destas doenças. (FLORES et al, 2004).

Pela necessidade de proteger a saúde humana da ação de agrotóxicos com persistência, a maioria dos organoclorados destinados ao uso na agricultura teve a comercialização, uso e distribuição proibidos para uso agrícola no Brasil pela Portaria nº 329, de 02 de setembro de 1985. (VISALEGIS, 2008; OGA, 2003; FLORES et al, 2004)<sup>3</sup>. Entretanto, algumas substâncias como o endossulfam e o dicofol, foram liberadas em caráter emergencial para comercialização, distribuição e uso em algumas culturas (Portaria nº. 95, de 21 de novembro de 1985).

Uma revisão publicada em 2007 sobre Substâncias Tóxicas Persistentes (STP) ou Poluentes Orgânicos Persistentes (POP) no Brasil<sup>4</sup> mostra que, apesar de parcialmente proibidas no país, níveis dessas substâncias estão presentes em diferentes matrizes ambientais (solo, sedimento, água, ar, biota), atingindo valores muito acima dos limites legislados em áreas consideradas críticas, ocasionando sérios riscos à saúde humana. Em tecidos humanos alguns POP podem ser detectados no leite, sangue e cabelo (ALMEIDA et al, 2007).

---

1 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 plantadas, e de outros ecossistemas e 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, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

2 Os organoclorados são considerados prejudiciais tanto para a saúde, quanto para o ambiente devido à persistência no ambiente e bioacumulação ao longo da cadeia alimentar. Por essa razão, vários agrotóxicos organoclorados já foram banidos ou sofreram restrições em países (ANTHERIEU et al, 2007).

3 Portaria nº 329, de 02 de setembro de 1985. Considerando a necessidade de resguardar a saúde humana e animal e o meio ambiente da ação de agrotóxicos, comprovadamente de alta persistência e/ou periculosidade resolve: 1º - Proibir, em todo o território nacional, a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, destinados à agropecuária, dentre outros: ALDRIN, BHC, CANFENO CLORADO (TOXAFENO), DDT, DODECACLORO, ENDRIN, HEPTACLORO, LINDANE, ENDOSSULFAM, METOXICLORO, NOMACLORO, PENTACLOROFENOL, DICOFOL e CLOROBENZILATO. Esta Portaria foi modificada posteriormente (Portaria no 153 de 7/7/1988).

4 De acordo com a UNEP-GEF Regionally Based Assessment de STP.  
<http://www.chem.unep.ch/Pts/regreports/Translated%20reports/Eastern%20and%20Western%20South%20America%20sp.pdf>

Para uma compreensão sistêmica da implicação do endossulfam para a saúde humana, deve-se inicialmente compreender as propriedades físico-químicas dos organoclorados. O endossulfam apresenta características de POP por apresentar átomos de cloro ligados a um anel em sua estrutura molecular, conformação que confere elevada estabilidade à molécula.

A preocupação acerca dos efeitos de longo prazo dos organoclorados tem aumentado, uma vez que a maioria destes contaminantes bioacumulam, permanecendo, principalmente, nos tecidos gordurosos; podendo agir sinergicamente com estrógenos endógenos, na interferência (desregulação) do sistema endócrino de animais e humanos expostos (SOTO; CHUNG; SONNENSCHNEIN, 1994).

As características de persistência, lipossolubilidade, semi-volatilidade, resistência ou dificuldade de degradação, bioacumulação e de serem transportados a longas distâncias fazem dos POP moléculas perigosas ocasionando efeitos adversos à saúde humana (DUARTE, 2002).

A biodegradação de uma substância pode ocorrer de duas formas: a mineralização completa do substrato até seus constituintes elementares ou a degradação parcial formando metabólitos que podem ser ainda mais tóxicos que a substância original. Além disso, uma substância não persistente cujo produto de degradação é persistente deverá também ser considerada como tal (DUARTE, 2002).

A dispersão dos POP é a propriedade de maior impacto, transformando-os em um problema de dimensões globais e por tal tem regulamentação intergovernamental para a sua produção e emprego. As substâncias persistentes utilizadas nos trópicos evaporam, e por processos sucessivos de condensação/evaporação, dependentes da temperatura, se distribuem em direção aos pólos. Este mecanismo explica a presença de POP nas regiões ártica e antártica, onde nunca foram utilizados.

A primeira evidência que relacionou os POP a danos à vida selvagem foi descoberta na América do Norte nos anos 60, quando se diagnosticou que a população de falcões peregrinos estava diminuindo devido à contaminação por agrotóxicos. A partir daí uma lista crescente de evidências apontou os POP como causadores de uma série de efeitos negativos em espécies predadoras no topo da cadeia alimentar (EUROLEX, 2007).

Dentre esses efeitos em animais, encontram-se problemas na reprodução e declínio populacional; funcionamento anormal da tireóide e outras disfunções hormonais; feminilização de machos e masculinização de fêmeas; sistema imunológico comprometido; tumores e cânceres; anormalidades comportamentais e maior incidência de malformação fetal (teratogênese) (MIRANDA, 2006).

Com o passar do tempo evidências semelhantes foram observadas em humanos, além de distúrbios no aprendizado; alterações no sistema imunológico; problemas na reprodução, como infertilidade; lactação diminuída em mulheres em período de amamentação; doenças como endometriose; aumento na incidência de diabetes, etc. Muitos POP danificam o sistema imunológico dos organismos vivos nos quais se acumulam, podendo imitar hormônios, interferir nos sistemas endócrinos e diminuir a fertilidade dos seres humanos e dos animais, ameaçando assim a sobrevivência de populações inteiras de seres vivos (PAT; LUSCOMBE; SIMPSON, 1998).

As formas de exposição do ser humano aos POP são: alimentação, água, ar, solo e pelas condições do ambiente de trabalho. A saúde de trabalhadores em diversas áreas é ameaçada devido à exposição a esses produtos durante a jornada de trabalho. Além destes as mulheres em período fértil e as crianças constituem os grupos humanos mais vulneráveis.

Todas estas questões vêm sendo estudadas e consideradas nos últimos quarenta anos e convenções internacionais vêm sendo estabelecidas para o disciplinamento do comércio e uso dessas substâncias ou produtos técnicos.

Em Estocolmo, entre 21 e 23 de maio de 2001, foi assinada, por cem países, entre os quais o Brasil, a Convenção sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, que tem como princípios a proteção da

saúde humana e do meio ambiente frente aos poluentes orgânicos persistentes. A Convenção de Estocolmo foi ratificada em 2004 pelo Senado Federal do Brasil.

O processo conhecido como procedimento de “Prévia Informação e Consentimento” - PIC foi adotado em 1989 com a finalidade de controlar as importações de produtos químicos indesejados já proibidos ou severamente restringidos em Estados Partes. A Convenção de Roterdã sobre o **Procedimento de Consentimento Fundamentado Prévio Aplicável a certos Pesticidas e Produtos Químicos** está em vigência no Brasil desde 24 de fevereiro de 2004. Atualmente encontra-se em discussão no âmbito desse acordo internacional, a inclusão do endossulfam na lista para o controle do seu movimento transfronteiriço.

O endossulfam, seus isômeros e metabólitos apresentam sérios efeitos negativos na saúde humana e no meio ambiente, especialmente para o sistema neurológico, reprodutor, endócrino e imunológico em seres humanos, já comprovados por evidências científicas.

Estudos subcrônicos e crônicos sugerem que o fígado, rins, sistema imunológico e testículos são os principais órgãos-alvo (HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2005). As populações que são notadamente mais suscetíveis ao endossulfam são os nascituros, os neonatos, crianças (principalmente do sexo masculino, já que o endossulfam possui propriedades estrogênicas e de desregulação endócrina) e também os idosos e pessoas com comprometimentos hepáticos, renais, imunológicos, hematológicos ou neurológicos (NAQVI, VAISHNAVI, 1993).

Diversas características físico-químicas do endossulfam foram apresentadas na descrição dos organoclorados persistentes acima descritas. O endossulfam tem características dos inseticidas organoclorados do grupo dos POP proibidos que compõem a denominada “lista suja” da Convenção de Estocolmo (2001), principalmente pela presença do anel ligado a seis moléculas de cloro.

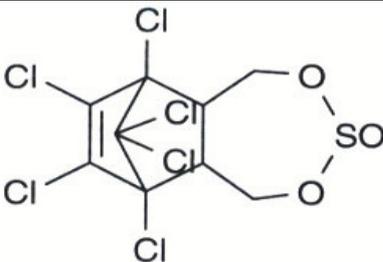
## 2.1. Identidade química e propriedades físico-químicas do endossulfam

O endossulfam é um sólido cristalino de cor marrom, com leve odor de dióxido de enxofre (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000). O endossulfam técnico é uma mistura de dois estereoisômeros biologicamente ativos ( $\alpha$  e  $\beta$ ) que deve conter pelo menos 94 % de endossulfam, segundo especificações da FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations), sendo aproximadamente 70% de  $\alpha$ -endossulfam e 30 % de  $\beta$ -endossulfam. O  $\alpha$  endossulfam é assimétrico enquanto que o  $\beta$ -endossulfam é simétrico e pode ser facilmente convertido ao  $\alpha$ -endossulfam, mas a recíproca não se aplica (GERMAN FEDERAL ENVIRONMENT AGENCY, 2007; LARINI, 1999).

O endossulfam técnico é estável à ação da luz solar, pouco estável à ação dos ácidos, bastante instável à ação dos álcalis, praticamente insolúvel em água e consideravelmente lipofílico, sendo solúvel na maioria dos solventes orgânicos (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000; LARINI, 1999). As propriedades físico-químicas encontram-se dispostas no Quadro 1.

**Quadro 1. Propriedades físico-químicas do endossulfam**

Característica	Informação	Referência
Nome Comum	Endossulfam	Monografia Anvisa
Nome Químico	1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en-2,3-ylenebis methylene) sulfite	Monografia Anvisa
Fórmula Molecular	$C_9H_6Cl_6O_3S$	Monografia Anvisa

Fórmula Estrutural		Monografia Anvisa
Grupo Químico	Organoclorados	U.S. Environmental Protection Agency (EPA)
	Clorociclodieno*	Monografia ANVISA
Nº CAS	115-29-7	Monografia Anvisa
Peso Molecular	406,95 daltons	EPA
Solubilidade	Água a 25°C.....60 – 100 µg/L Solventes Orgânicos a 20°C Diclorometano.....65 g/L Etanol.....65 g/L Acetato de Etila.....200 g/L Hexano.....24 g/L Tolueno.....200 g/L Acetona.....262 g/L Benzeno.....333 g/L Tetracloroeto de carbono.....460 g/L Clorofórmio.....746 g/L Querosene.....164 g/L Metanol.....89 g/L Xileno.....388 g/L	Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)
Ponto de Fusão	(Produto técnico) 70 a 100 °C (Puro) 106 °C	IPCS
Ponto de Ebulição	Decompõe	IPCS
Densidade	1,735 a 20 °C	ATSDR
Pressão de Vapor	1 x 10 <sup>-5</sup> mmHg	ATSDR
Coefficiente de partição	Log Kow 3,55 e 3,62	ATSDR
Hidrólise meia vida	14,8 (pH 7)	DPR chemical database (DPR, 2004)
Fotólise	>200	GFEA, 2004

\*Os clorociclodienos são um subgrupo da classe dos organoclorados.

Fonte: REIS, 2008 com modificações

## 2.2. Produção e uso

Em muitos países, principalmente naqueles em desenvolvimento, o uso indiscriminado dos agrotóxicos é generalizado e tem chamado à atenção dos governos, das agências de proteção do meio ambiente e de trabalhadores (CASTRO; CONFALONIERI, 2005).

No Brasil, o consumo de agrotóxicos cresceu significativamente nas últimas décadas, transformando o país no líder mundial no consumo destes insumos químicos sintéticos no ano de 2008 (GM). A importância econômica desse mercado é evidente: segundo a ABIQUIM (Associação Brasileira da Indústria Química), o faturamento do segmento de agrotóxicos saltou de 1,9 bilhões em

2002 para 7,1 bilhões em 2008 (AGROANALISYS, 2009). As vendas de endossulfam no Brasil no ano de 2005 foram de 6.600 toneladas de ingrediente ativo (IBAMA, 2006).

A Índia é a principal produtora de endossulfam no mundo, com mais de sessenta empresas de manufatura e formulação (GEF-IO, 2002); Israel também é produtor de endossulfam. Em 2007 na China havia quatro empresas produtoras (LI et al, 2007).

O Endossulfam é um inseticida-acaricida muito utilizado nas culturas de soja, algodão, café, cana de açúcar e em outras cujo uso não é autorizado e é um dos principais contaminantes encontrados em alimentos, solo e água em vários países (ANTHERIEU et al, 2007).

No Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) coordenado pela ANVISA e pelas vigilâncias sanitárias dos estados, foram detectados resíduos de endossulfam, em amostras de culturas no qual este agrotóxico não é autorizado, tais como: batata, mamão, morango, pimentão e uva.

Um estudo acerca da comercialização e utilização de agrotóxicos nas cidades de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA) constatou que dois produtos formulados à base de endossulfam estavam entre os mais vendidos pelas lojas de agrotóxicos desse pólo fruticultor de uva e manga, culturas para as quais esse agrotóxico não possui autorização (BEDOR et al, 2007).

### **2.3. Dados de intoxicações e acidentes envolvendo o endossulfam**

A principal forma de exposição ao endossulfam pela população em geral, é através da ingestão de alimentos contendo resíduos provenientes da aplicação em culturas agrícolas, de água contaminada, de alimentos que sofreram a bioconcentração do mesmo, tais como peixes e frutos do mar (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000) e ainda pela dispersão aérea de agrotóxicos, que pode constituir-se em acidentes rurais ampliados (PIGNATI, et al, 2007).

Em novembro de 2008, o Rio Paraíba do Sul-RJ foi afetado pelo vazamento de 8 mil litros do agrotóxico endossulfam, proveniente da empresa Servatis. Como consequência, entre os dias 18 e 28 de novembro desse ano, a extensão da contaminação provocada pelo vazamento percorreu mais de 400 km ao longo do rio (de Resende até sua foz, em São João da Barra, no Rio de Janeiro), provocando, em toda a sua extensão, enorme mortandade de variadas espécies de peixes. Este desastre ampliado trouxe enormes consequências para as populações ribeirinhas, além de prejuízos econômicos.

A exposição de crianças pode diferir da exposição de adultos, pois a fisiologia e comportamentos únicos da criança podem influenciar na extensão da exposição. As crianças são particularmente sensíveis ao endossulfam em decorrência da alta permeabilidade intestinal e sistema de detoxificação imaturo. Essas diferenças devem ser levadas em consideração ao avaliar riscos do endossulfam. Membros da população em geral com potencial de alta exposição ao endossulfam ou endossulfam sulfato incluem pessoas que moram próximas a locais contaminados com esses compostos (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

O trabalho agrícola é uma das mais perigosas ocupações na atualidade. Dentre os vários riscos ocupacionais, destacam-se os agrotóxicos que são relacionados a intoxicações agudas, doenças crônicas e problemas reprodutivos (INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000).

No cenário ocupacional, a exposição ao endossulfam ocorre predominantemente por via dérmica e inalatória (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000). Os trabalhadores podem ser expostos durante a mistura, carregamento, aplicação do composto ou durante a reentrada em áreas tratadas (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002). O Endossulfam é absorvido facilmente quando em contato com a pele (FLORES et al, 2004).

O uso de endossulfam tem resultado alta incidência de intoxicações intencionais e não intencionais, sobretudo em países em desenvolvimento, sendo importante causa de morte nos mesmos (BLANCO-CORONADO et al, 1992; CH et al, 2005; KARATAS, AYGUN, BAYDIN, 2006; KUTLUHAN et al, 2003; OKTAY et al, 2003; YAVUZ et al, 2007).

No Brasil, é grande o número de trabalhadores expostos, sendo as intoxicações agudas a face mais visível do impacto destes produtos na saúde (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

Existe uma grande subnotificação das intoxicações por agrotóxicos no Brasil, sendo esta uma das grandes vulnerabilidades institucionais do País, entre outras relacionadas ao controle e monitoramento do uso de agrotóxicos em todo território nacional que é um aspecto a ser levado em consideração nos processos de registro e reavaliação desses ingredientes ativos. Existem críticas a respeito dos sistemas de notificação de intoxicação como as de que nenhum deles tem respondido adequadamente como instrumento de vigilância deste tipo de agravo (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

Na prática, só se registram os casos agudos e mais graves. Mesmo para os casos agudos, a subnotificação é muito grande e os casos crônicos não são captados por nenhum dos sistemas de informação (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

No ano de 2002, em um estudo retrospectivo realizado em um hospital no Sul da Índia, foram relatados 1.035 casos de intoxicações, sendo o endossulfam e o monocrotofós responsáveis pela maioria das mortes por agrotóxicos. Houve 138 casos de intoxicação por endossulfam, com 28% de letalidade. No referido estudo, o endossulfam resultou em uma taxa de letalidade muito superior à do endrin (CH et al, 2005), que é um organoclorado que foi banido do Brasil há vários anos.

Segundo dados do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX, 2008), dos 6.827 casos de intoxicação atribuídos à circunstância ocupacional, sendo 1.734 (25%) por agrotóxicos de uso agrícola e 898 (13%) por produtos químicos industriais. Ainda, a principal causa de letalidade está relacionada aos agrotóxicos.

Embora a pesquisa brasileira sobre o impacto do uso de agrotóxicos na saúde humana tenha crescido nos últimos anos, ainda é insuficiente para conhecer a extensão da carga química de exposição ocupacional e a dimensão dos danos à saúde decorrentes do uso intensivo de agrotóxicos. Um dos problemas apontados é a falta de informações para o sistema de saúde sobre o consumo de agrotóxicos e a insuficiência dos dados sobre intoxicações por estes produtos.

Quando se procedem as pesquisas populacionais, temos demonstrações da gravidade das situações em que os agrotóxicos são utilizados no campo. Para ilustrar, em Antônio Prado e Ipê (RS), 2% dos trabalhadores rurais relataram intoxicações ocupacionais por agrotóxicos no ano anterior. E nenhum destes casos havia sido notificado ao Centro de Informações Toxicológicas (CIT) do Rio Grande do Sul (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

As publicações mais recentes da Organização Internacional do Trabalho e Organização Mundial da Saúde (ILO/WHO) estimam que, entre trabalhadores de países em desenvolvimento, os agrotóxicos causam anualmente 70 mil intoxicações agudas e crônicas que evoluem para óbito. E pelo menos 7 milhões de doenças agudas e crônicas não-fatais, devido aos agrotóxicos. O Ministério da Saúde estima que, no Brasil, anualmente, existam mais de 400 mil pessoas contaminadas por agrotóxicos, com cerca de 4 mil mortes por ano (MOREIRA et al, 2002).

A duvidosa efetividade dos equipamentos de proteção individual-EPI (VEIGA et al, 2007); a disponibilidade restrita pelos empregadores; o custo; a inadequação ao clima ou mesmo utilização inadequada dos mesmos trazem um problema adicional para as medidas de segurança e de proteção da saúde de trabalhadores que operam com esses produtos químicos. Estudos sobre a percepção do uso desses equipamentos apontam como motivos para a não utilização o desconforto e incerteza quanto à

eficácia dos mesmos (CASTRO; CONFALONIERI, 2005; SCHMIDT; GODINHO, 2006; FARIA, 2004).

Os trabalhadores rurais no Brasil têm, em geral, baixa escolaridade e muitas vezes utilizam a aplicação intensiva de agrotóxicos como a principal medida de controle de pragas, possuem pouco ou nenhum treinamento para a utilização de agrotóxicos, desconhecem muitas situações de risco e não utilizam equipamentos de proteção para a manipulação e aplicação dos produtos (ARAÚJO; NOGUEIRA; AUGUSTO, 2000; CASTRO; CONFALONIERI, 2005; SCHMID; GODINHO, 2006). Constitui uma violação de direitos humanos a exposição de trabalhadores não treinados para o manuseio de substâncias perigosas (DHESC, 2006).

Por todas essas razões, os trabalhadores rurais que utilizam o endossulfam para controle de pragas nas diferentes culturas estão expostos a concentrações elevadas desse produto e de outros.

Medidas mitigadoras na utilização de agrotóxicos de modo geral incluem banimento ou restrição do uso de substâncias altamente tóxicas, regulação do mercado e da propaganda, desenvolvimento de produtos e tecnologias menos perigosas, inspeção dos produtos nas lojas de venda e do modo de uso nos locais de utilização, monitoramento da população mais exposta e mais vulnerável, atenção à saúde e amparo social, alfabetização, conscientização e capacitação dos trabalhadores rurais entre outros (CASTRO; CONFALONIERI, 2005; GARCIA, 1996). A maioria dessas medidas ainda é limitada no Brasil.

O acesso aos serviços de saúde e meios diagnósticos ainda limita os cuidados da saúde e inibem a procura para o atendimento médico em casos de intoxicações e, quando há procura, o caso não é devidamente registrado pelos profissionais de saúde. Medidas preventivas e de proteção à saúde também são pouco usuais pelos empregadores nas áreas de trabalho agrícola.

Há com frequência dificuldade em se realizar um diagnóstico adequado das intoxicações por agrotóxicos pelas equipes da rede de saúde o que dificulta não só o tratamento, mas também a notificação da ocorrência (SCHMIDT; GODINHO, 2006).

Observa-se que a anemia, desnutrição, doenças imunossupressoras e diabetes são agravos que aumentam a susceptibilidade às intoxicações por agrotóxicos bem como a sua gravidade (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

Outras vulnerabilidades de ordem social existem, e um exemplo é o fato da alta frequência de trabalhadores rurais desprovidos de seguridade social e de escolaridade mínima para operacionalizar as atividades com substâncias perigosas. A grave situação social coloca mulheres e crianças em situações de risco também pela histórica desigualdade social observada nas áreas agrícolas.

#### **2.4. Implicações para a saúde ambiental**

Não existe a ocorrência natural do endossulfam no meio ambiente. A contaminação ocorre durante o processo de fabricação, transporte, distribuição, aplicação, depósito inadequado de embalagens e resíduos. O endossulfam adere a partículas argilosas e é facilmente detectado em solos contaminados, onde permanece por vários anos dependendo de fatores que afetem sua degradação (NAQVI; VAISHNAVI, 1993).

Como já exposto anteriormente, o endossulfam é um agrotóxico semi-volátil e persistente (ENVIRONMENTAL RISK MANAGEMENT AUTHORITY; 2007). As substâncias semi-voláteis podem percorrer longas distâncias, tanto na forma particulada quanto na gasosa, ou adsorvidas a partículas sólidas. Perdas atmosféricas de agrotóxicos durante e após a aplicação, contribuem para a

ocorrência dessas substâncias em locais distantes (GERMAN FEDERAL ENVIRONMENT AGENCY, 2007).

O endossulfam pode ser convertido por hidrólise ou oxidação formando endossulfato (endossulfam sulfato) ou endodiol (endossulfam diol). O endossulfam é principalmente liberado por volatilização e oxidação a endossulfam sulfato (SUTHERLAND et al, 2004).

A meia vida do endossulfam varia de alguns meses a mais de dois anos no solo e de um a seis meses na água, dependendo das condições climáticas, anaeróbicas e pH do meio. Dados disponíveis sugerem que o endossulfam sulfato é mais persistente do que o composto parental. A meia-vida estimada da combinação de resíduos tóxicos de endossulfam e endossulfam sulfato varia de 09 meses a seis anos (ENVIRONMENTAL RISK MANAGEMENT AUTHORITY, 2007).

Os resíduos do endossulfam no ambiente são um fator de risco para a saúde humana. O endossulfam sulfato apresenta uma toxicidade aguda semelhante a aquela do composto parental, acumulando-se no tecido adiposo dos animais, sendo o principal resíduo detectado no tecido animal após exposição. Conseqüentemente, a contaminação de pastos pode resultar em quantidades muito elevadas de resíduos de endossulfato em animais que se desenvolvem no local (SUTHERLAND et al, 2004).

O acidente ocorrido no Brasil em 2008, com o vazamento de endossulfam para o Rio Paraíba do Sul, não foi um caso isolado<sup>3</sup>. A literatura apresenta uma série de relatos de contaminações por endossulfam afetando peixes e outras espécies em bacias hidrográficas, tais como do Ouémé na República de Benin (YEHOUENOU et al, 2006); do Loukkos, no Marrocos (BAKOURI ET AL 2007)); do Alpino, na Itália ( VILLA ET AL, 2006); do Gange, na Índia (SINGH ET AL, 2007); do Lourens na África do Sul (DABROWSKI ET AL, 2002).

A literatura recente indica que o endossulfam tem potencial de causar desregulação endócrina tanto em espécies terrestres quanto em aquáticas. Os efeitos observados foram o desenvolvimento alterado em anfíbios, secreção de cortisol reduzida em peixe, alteração em níveis hormonais e desenvolvimento do trato genital em pássaros, atrofia testicular e produção reduzida de esperma em mamíferos. Por essas razões o endossulfam foi incluído na lista OSPAR (Cooperação Internacional na Protecção do Ambiente Marinho do Atlântico Nordeste) de potenciais desreguladores endócrinos (GERMAN FEDERAL ENVIRONMENT AGENCY, 2007).

Um estudo mostra que o endossulfam foi detectado em 13,2% das amostras de leite cru e em 8,51% das amostras de leite pasteurizado pesquisadas em São Paulo por CISCATO et al. (2002). A contaminação do leite bovino pode ter ocorrido por rações e pastagens contaminadas, ou tratamento de ectoparasitas com pesticidas aplicados em desacordo com as boas práticas agropecuárias.

## **2.5. Impurezas relevantes do ponto de vista toxicológico**

Nos produtos técnicos do endossulfam existe o potencial para formação de dibenzo-p-dioxinas e dibenzofuranos clorados (EPA, 2002).

As dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDDs) e os dibenzofuranos policlorados (PCDFs) são duas séries de compostos aromáticos tricíclicos que podem causar uma série de efeitos tóxicos com

---

<sup>3</sup> Jornal O GLOBO, de 26 de novembro de 2008, disponível em [http://oglobo.globo.com/rio/mat/2008/11/26/inseticida\\_contaminou\\_rio\\_paraiba\\_do\\_sul\\_na\\_piracema-586567740.asp](http://oglobo.globo.com/rio/mat/2008/11/26/inseticida_contaminou_rio_paraiba_do_sul_na_piracema-586567740.asp)

ampla variação no que se refere à potência (CHEMICAL SAFETY INFORMATION FROM INTERGOVERNMENTAL ORGANIZATIONS, 2008).

A 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (2,3,7,8-TCDD) e, em menor extensão, CDDs com cinco ou seis átomos de cloro substituídos nas posições 2, 3, 7 e 8, são extremamente tóxicos para animais (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 1998).

As PCDDs e os PCDFs são armazenados predominantemente no tecido adiposo. Pelo fato de permanecerem por um longo período, contaminações decorrentes de uso de agrotóxicos no passado podem ainda ser preocupantes (CHEMICAL SAFETY INFORMATION FROM INTERGOVERNMENTAL ORGANIZATIONS, 2008).

Os resultados de estudos em animais com essas impurezas sugerem que os efeitos mais sensíveis, ou seja, aqueles que ocorrem nas menores doses são os neurotóxicos, imunológicos, desreguladores endócrinos e efeitos sobre o desenvolvimento. Esses seriam os efeitos mais relevantes em humanos (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 1998; CHEMICAL SAFETY INFORMATION FROM INTERGOVERNMENTAL ORGANIZATIONS, 2008).

### **3. Toxicocinética**

#### **3.1. Vias de Exposição e Absorção**

Todos os organoclorados podem ser absorvidos pela pele, trato digestivo e respiratório. Vários fatores podem modificar a absorção, tais como veículos (solventes), presença de gorduras e estado físico do agrotóxico (OGA, 2003).

A manipulação de solução com ciclodieno é perigosa pelo fato de serem mais eficientemente absorvidos pela pele. Esta via de absorção o torna consideravelmente perigoso em situações de exposições ocupacionais. As vias respiratórias também são importantes vias de exposição nessas situações (GILMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2003 APUD REIS, 2008, 2003 apud REIS, 2008; KLAASSEN, 2001).

Em animais foi demonstrado que o endossulfam é absorvido através das vias de exposição inalatória, oral e dérmica, podendo ser absorvida em torno de 80% da dose oral administrada e 20% da dose dérmica (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

O  $\beta$ -isômero é mais facilmente absorvido do que o  $\alpha$ -isômero (Hazardous Substances Data Bank, 2005). Em um experimento, no qual foram administradas doses orais de 2 mg/kg de  $\alpha$  e  $\beta$  endossulfam, verificou-se que a absorção do  $\alpha$ -endossulfam pode ser de até 78% e a do  $\beta$ -endossulfam de até 85% (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

#### **3.2. Distribuição**

Quase todo o endossulfam que entra no corpo através da via oral é metabolizado e eliminado na urina e fezes dentro de poucos dias a poucas semanas. No seu processo de biotransformação os metabólitos intermediários e finais podem ser tão ou mais tóxicos, como será visto adiante.

Estudos em animais e achados de autópsias do endossulfam e metabólitos em vários tecidos humanos sugerem que o endossulfam absorvido é mais rapidamente distribuído para o tecido adiposo e cerebral, mas que o fígado e rim podem funcionar como depósitos de endossulfam e seus metabólitos por um longo período (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2000).

O endossulfam já foi detectado em leite materno de mulheres ambientalmente expostas, indicando que pode ocorrer exposição de crianças durante a lactação pela via digestiva (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

Em camundongos, 24 horas após administração oral de endossulfam radiomarcado, foram detectados resíduos em tecidos ricos em gordura tais como adiposo, fígado, rim, cérebro e sangue (Hazardous Substances Data Bank, 2005). A capacidade lipofílica favorece sua distribuição para esses tecidos.

Em um caso de ingestão de endossulfam, amostras de sangue e urina foram analisadas para  $\alpha$ -endossulfam,  $\beta$ -endossulfam e endossulfam sulfato em intervalos de 2,5 horas a 91 horas após a ingestão. Duas horas e meia após a ingestão de 260 mg/kg de endossulfam, os níveis sanguíneos encontrados foram: 644 mcg/L de  $\alpha$ -endossulfam, 101 mcg/L de  $\beta$ -endossulfam e 874 mcg/L de endossulfam sulfato. Os níveis sanguíneos diminuíram rapidamente e, em 91 horas, o  $\alpha$ -endossulfam estava em 13 mcg/L, o endossulfam sulfato 179 mcg/L e o  $\beta$ -endossulfam estava abaixo do limite de detecção de 10 mcg/L. O paciente morreu no 4º dia e, na pós-morte, a maior concentração de endossulfam sulfato foi detectada no tecido hepático (3034 mcg/kg), seguido pelo cérebro e rins. Foram encontrados níveis bastante elevados de  $\alpha$ -endossulfam no tecido adiposo (4105 mcg/kg) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

### 3.3. Meia Vida Biológica e Acumulação

Dados de autópsia em humanos sugerem que o endossulfam pode acumular-se no fígado, rins e cérebro pelo menos em curto prazo. Dados em animais também sugerem que, após distribuição inicial para o tecido adiposo, o endossulfam acumula-se no fígado e rins, e que o  $\alpha$ -isômero acumula em uma extensão maior do que o  $\beta$ -isômero (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

Isômeros e metabólitos do endossulfam foram detectados no tecido adiposo de 30–40% de crianças hospitalizadas em regiões agrícolas da Espanha, demonstrando que o endossulfam acumula no tecido adiposo de crianças após provável repetida exposição dietética (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

As meias vidas para eliminação urinária e fecal em ratos foram bifásicas, com uma meia vida precoce de 6 a 14 horas e meia vida tardia de 33 a 65,7 horas (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000).

### 3.4. Biotransformação

O endossulfam em humanos é rapidamente biotransformado após exposição. Ele é biotransformado principalmente a metabólitos polares e não polares pelas enzimas microsossomais (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000). No entanto, o fato de ser rapidamente biotransformado não significa menor toxicidade.

Moléculas policíclicas rígidas devido à sua peculiaridade estrutural apresentam interação específica com receptores biológicos e/ou na inibição competitiva ou não-competitiva com espécies químicas menores em seu interior (RANGANATHAN et al, 1999).

Estruturas policíclicas rígidas aumentam a capacidade lipofílica através das membranas celulares, bem como aumentam sua afinidade pelas regiões lipofílicas dos receptores. Estas estruturas também proporcionam estabilidade metabólica, podendo prolongar o efeito endógeno (BROOKES et al, 1992).

Além da citotoxicidade, essas moléculas podem causar lesões na membrana plasmática dos eritrócitos, seja por formação de poros ou pela ruptura total impossibilitando o transporte das substâncias até o seu alvo ou receptor, além de causar lesões que comprometem a saúde, o que pode explicar muitas das observações de toxicidade observadas nos estudos experimentais aportados pelas empresas à ANVISA para avaliação toxicológica, com vistas à obtenção do registro do endossulfam.

O metabolismo em animais é por oxidação (endossulfam sulfato) e hidrólise (endossulfam diol). Quando administrado para ratos por diversas vias, o endossulfam é metabolizado a sulfato, diol,

hidróxi-éter, lactona, éter, ácido carboxílico hidróxi-endossulfam. (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

O endossulfam altera as atividades da desidrogenase láctica (DHL), da desidrogenase de glicose-6-fosfato e da fosfatase alcalina e diminui a produção energética mitocondrial nos ratos (TIETZ, 1999).

O endossulfam é um agente tóxico importante que gera radicais livres de oxigênio no fígado. Na região de Çukurova (Turquia), um estudo experimental animal mostrou haver relação entre a incidência de toxicidade no fígado e o uso difundido do endossulfam. Foi investigado os danos histológicos e o aumento da desidrogenase láctica no fígado (MAQVI; VAISHNAI, 1993).

Sessenta animais, camundongos adultos (30 controles, 30 tratados), pesando entre 23-40 g, obtido do Centro de Pesquisa Experimental Médico-Cirúrgica da Universidade de Çukurova foram utilizados no estudo. Os efeitos da administração oral do endossulfam (0,24 mg por 100 g de peso corpóreo) diária por 90 dias (a curto prazo) e 180 dias (a longo prazo) foram investigados. No fim do período experimental, foi observado aumento no peso do fígado dos animais tratados de curto e longo prazos. No exame microscópico o fígado dos grupos tratados exibiu dano histopatológico severo. O fígado no grupo tratado por endossulfam oral a longo prazo mostrou mudança na atividade da desidrogenase láctica com método histoquímico de dosagem enzimática. Concluiu-se que a exposição ao endossulfam nos ratos promove dano histológico no tecido do fígado com aumento dos níveis DHL. Exames microscópicos de tecidos do fígado revelou hepatite tóxica crônica: infiltração inflamatória mononuclear portal, aumento de eosinófilos e inflamação lobular (necrose). A presença de eosinófilos em áreas necróticas com depósitos de fibrina foram consideradas mudanças displásicas no fígado. O endossulfam biotransformado pelo sistema oxigenase do citocromo P450 no fígado, produz os radicais livres altamente reativos. Índice Hepático/somático aumentado é um efeito tóxico do endossulfam. O aumento de enzima DHL no fígado é um marcador histoquímico importante para a toxicidade do endossulfam em mamíferos e é um modelo que pode ser aplicável aos tecidos humanos (MAQVI; VAISHNAI, 1993).

### 3.5. Eliminação

Em animais, as fezes são a principal via de eliminação do endossulfam e seus metabólitos. As estimativas das meias vidas de eliminação compreendem de 01 a 07 dias em humanos e animais adultos. O endossulfam também pode ser eliminado através do leite materno em mulheres e animais no período de lactação. Não existem estudos acerca de diferenças entre crianças e adultos no que diz respeito à excreção de endossulfam (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

A maioria do composto é excretada nas primeiras 48 horas. As quantidades excretadas são independentes do nível e número de doses (HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2005).

O  $\alpha$ -endossulfam e o endossulfam sulfato, mas não o  $\beta$ -endossulfam, foram observados na urina de 0 - 3,5 horas após a exposição, e o endossulfam sulfato também foi observado na urina até 91 horas após a exposição em um homem que morreu depois de ingerir uma única dose de 260 mg/kg de endossulfam (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

Estudos em ratos sugerem que os componentes eliminados primariamente nas fezes após administração oral de 1,2 mg/kg de endossulfam são: composto original, endossulfam sulfato, todos os metabólitos livres de enxofre. Foram identificados na urina principalmente endossulfam diol e conjugados polares, em adição a algum composto original não modificado (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

Após administrações oral e intravenosa de endossulfam radiomarcado a ratos Wistar em dose de 0,2 mg/kg (machos) e 0,5 mg/kg (fêmeas), mais de 80% da dose administrada por via intravenosa ou 90 % da oral foram eliminadas na urina e fezes dentro de 7 dias. O endossulfam radiomarcado ( $\alpha$  ou  $\beta$  isômero) foi rapidamente excretado por ratos após dose oral de 0,2 mg/kg ou administração na dieta a uma concentração de 5ppm. Após a dose única, mais de 85% dos isômeros foram excretados em 120 horas, sendo mais de 70% após 48 horas, principalmente nas fezes e em menor extensão na urina. Após administração na dieta por 14 dias, seguido de um período de recuperação de 14 dias, mais de 72% da dose administrada foi recuperada. A excreção biliar do composto radiomarcado em ratos

que receberam 1,2 mg/kg aproximou-se de 50% para o  $\alpha$ -isômero e 30% para o  $\beta$ -isômero no decurso de 48 horas. Parece haver pequena circulação enterohepática. A maior parte do composto radiomarcado administrado foi biotransformado a produtos altamente polares, a maioria dos quais não pode ser extraída das fezes ou tecidos. Da fração que pode ser extraída, metabólitos polares não identificados constituíram 6,2 % nas fezes e 13% na urina. Os metabólitos apolares do endossulfam identificados nas fezes e urina foram o diol, a lactona, o alfa-hidróxi-éter e o sulfato (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2000).

#### 4. Toxicidade do Endossulfam

##### 4.1. Toxicidade aguda

A toxicidade aguda do ingrediente ativo endossulfam foi avaliada com base nos estudos encaminhados à ANVISA com o intuito de suportar o registro dos produtos técnicos e formulados à base de endossulfam. Os estudos foram conduzidos em animais experimentais através da exposição pelas vias oral, inalatória, dérmica, intradérmica e ocular. Os dados de doses letais (oral e dérmica) e concentrações letais estão sumarizados no Quadro 2. No Quadro 3 são mostrados dados de toxicidade aguda disponíveis nos relatórios publicados pela EPA.

**Quadro 2 – Estudos de toxicidade aguda do ingrediente ativo endossulfam segundo dados apresentados no Dossiê de registro submetido à ANVISA**

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%)	DL50 (mg/kg) ou CL50 (mg/l)	Referência
Rato	Wistar	Oral	96	34,36 $\pm$ 5,74	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Oral	93	<100	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Oral	92	♂ - 82,76 ♀ - 46,76	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Oral	96	♂ - 100 – 160 ♀ - 22,7	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Dérmica	96	152,78 $\pm$ 17,00	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Dérmica	93	490**	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Dérmica	92	♂ > 2.000 ♀ - 1.401,22	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	Wistar	Inalatória (4h de exposição)	96	0,58*	Dossiê de registro submetido à ANVISA

\* Intervalo de segurança: Limite inferior – 0,40 mg/L Limite superior: 0,83 mg/L

\*\* Intervalo de segurança: Limite inferior – 352 mg/Kg de peso Limite superior: 681 mg/Kg de peso

**Quadro 3 – Estudos de toxicidade aguda do ingrediente ativo endossulfam segundo a ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (2002)**

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%)	DL50 (mg/kg) ou CL50 (mg/l)	Referência
---------	----------	-----	------------	-----------------------------	------------

Rato	-	Oral	-	♂ - 82 ♀ - 30	EPA (2002)
Rato	-	Dérmica	-	2.000	EPA (2002)
Rato	-	Inalatória	-	0,16 – 0,5	EPA (2002)

A análise desses dados de toxicidade aguda (Quadro 2 e 3) mostram uma elevada toxicidade para o endossulfam, com especial atenção aos valores de DL50 oral que variou entre 22,7 e 46,76 mg/Kg em fêmeas tratadas e demonstrou alta letalidade, dados de necropsia revelaram que todas as mortes do estudo ocorreram por congestão pulmonar (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002; dossiê de registro submetido à ANVISA).

Com relação aos estudos de Concentração Letal pela via inalatória (CL50), os resultados apontam efeitos tóxicos severos, tais como apatia, tremores musculares e insuficiência respiratória, os dados de necropsia revelaram que as mortes ocorreram em virtude de congestão pulmonar (dossiê de registro submetido à ANVISA).

Nos estudos de DL50 pela via dérmica todos os animais que morreram, em virtude da administração do endossulfam, apresentaram congestão hepática e pulmonar, sendo 152,78 mg/Kg de peso vivo a dose letal média para ratos machos e fêmeas (dossiê de registro submetido à ANVISA).

Quanto aos testes de irritação ocular em coelhos, as análises mostraram desde alterações mínimas, tais como congestão leve na conjuntiva e edema acima do normal entre 24 e 48 horas (dossiê de registro submetido à ANVISA) e opacidade persistente por 13 dias na referência da EPA (2002).

Os estudos de irritação dérmica mostraram ausência de irritação e alterações reversíveis em 72 horas (dossiê de registro submetido à ANVISA). Com relação aos estudos de sensibilização dérmica, segundo estudo da EPA (2002), o produto não apresentou sensibilidade para cobaias.

#### 4.1.1. Intoxicações agudas em seres humanos

Os efeitos clínicos da intoxicação aguda aparecem nas primeiras 6 horas após a exposição. Isso se deve à rápida absorção e distribuição do agrotóxico em depósitos lipídicos, incluindo o sistema nervoso central - SNC. Apesar de apresentar meia vida plasmática de poucas horas, sua redistribuição aos tecidos e na circulação prolonga a meia vida de eliminação e duração da toxicidade aguda (ROBERTS *et al*, 2004).

O quadro clínico segue três estágios: falência cardíaca e estímulo do SNC, com convulsões, seguido de quadro pulmonar com convulsão e lenta recuperação (SHEMESH, 1988).

O aparecimento dos sintomas geralmente se dá de forma abrupta e a estimulação do SNC é a manifestação mais característica da exposição aguda, sendo as crises epiléticas uma importante manifestação clínica (SHEMESH *et al*, 1988). A sintomatologia e os sinais clínicos mais proeminentes da intoxicação aguda, tanto em humanos quanto em animais, são as manifestações neurotóxicas (ALEKSANDROWICZ, 1979; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2005).

Também pode ocorrer toxicidade hepática, renal, miocárdica, agranulocitose, anemia aplástica, edema cerebral, edema pulmonar, trombocitopenia, distúrbios metabólicos e reações na pele (LO *et al*, 1995; BLANCO-CORONADO *et al*, 1992; BOEREBOO, *et al*, 1998; CHUGH *et al*, 1998; EYER *et al*, 2004; RAAISKARIMI, 2001).

A morte frequentemente ocorre entre 6-8 horas após a exposição e decorre de falência respiratória e distúrbios metabólicos, particularmente acidose devido à prolongada atividade convulsivante (LO *et al*, 1995; BLANCO-CORONADO *et al*, 1992; BOEREBOO, *et al*, 1998; CHUGH *et al*, 1998; EYER *et al*, 2004; RAAISKARIMI, 2001). As principais causas de morte por intoxicação aguda por endossulfam incluem aspiração pulmonar, insuficiência miocárdica, edema pulmonar e falência múltipla de órgãos (RAMASWAMY; PURI; RAJEEV, 2008).

Vários estudos registraram efeitos toxicológicos resultantes da superestimulação do SNC pelo endossulfam em humanos (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY,

2000; AGRAWAL *et al*, 1983; ALEKSANDROWICZ 1979; BLANCO-CORONADO *et al*, 1992; BOEREBOOM *et al*, 1998; CHUGH *et al*, 1998; DEWAN *et al*, 2004; EYER *et al*, 2004; HODGSON; LEVI, 1996; KARATAS; AYGUN; BAYDIN, 2006; KUCUKER *et al*, 2009; KUTLUHAN *et al*, 2003; NAQVI; VAISHNAVI, 1993; PANKAJ, 2007; PRADHAN *et al* 1997; RAMASWAMY; PURI; RAJEEV, 2008; ROBERTS *et al*, 2004; TIBERIN *et al*, 1970; VENKATESWARLU *et al* 1999, YAVUZ *et al*, 2007).

Em um caso de tentativa de suicídio, convulsões recorrentes por duas semanas foram seguidas de recuperação lenta, mas a atividade mental permaneceu prejudicada mesmo após um ano, havendo necessidade de administração de medicamentos para controlar as convulsões (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000). Sintomas de envenenamento agudo em uma adolescente foram seguidos de psicose, cegueira cortical e rigidez de membros (PRADHAN *et al*, 1997).

Ramaswamy, Puri e Rajeev (2008) descreveram um caso de intoxicação aguda que evoluiu com hemólise intravascular em que uma paciente apresentou inicialmente quadro epiléptico grave do tipo grande mal, seguido de coagulação intravascular disseminada com hipotensão grave, queda de hemoglobina, sangramento nasal e telangiectasia aracniforme. Em seguida apresentou edema pulmonar, acidose metabólica e hipercalemia, com evolução para fibrilação ventricular e morte.

Karatas *et al* (2006) em estudo retrospectivo de casos de pacientes com intoxicação aguda por endossulfam atendidos em um hospital universitário de Singapura no ano de 2005, observaram que náusea, vômito e dor abdominal predominaram em 2/3 dos casos, continuando por 6 horas. Não houve quadro de estado epiléptico nem edema pulmonar, entretanto todos os pacientes apresentaram convulsões nas primeiras 3 horas e evoluíram para comprometimento hepático.

Blanco-Coronado *et al* (1992), ao relatarem seis casos clínicos de intoxicação aguda por endossulfam destacaram que um apresentou quadro semelhante de coagulação intravascular disseminada, com trombose de artéria pulmonar e aorta, e choque cardiogênico seguido de morte. Este paciente apresentou no nível sanguíneo 2,85 mg/l de endossulfam, enquanto os sobreviventes tiveram uma média de 0,48 mg/l. Nestes pacientes, o quadro sintomatológico teve início 2,7 h  $\pm$  0,5h após a ingestão. Três pacientes apresentaram aspiração pulmonar e cinco precisaram de ventilação mecânica.

Esses altos níveis são semelhantes aos evidenciados por Eyer *et al* (2004), no relato de ocorrência de dois casos de intoxicação por endossulfam que apresentaram sinais de grave comprometimento da saúde caracterizado por estado epiléptico, insuficiência respiratória e instabilidade hemodinâmica logo após a ingestão. Nestes pacientes, os níveis de endossulfam no sangue foram de 0,86 mg/L e 0,12 mg/L, respectivamente. Segundo os autores, estes casos evoluíram com edema cerebral e falência cardíaca. Ambos apresentaram quadro grave que teve início logo após a exposição por ingestão, caracterizado por estado epiléptico, insuficiência respiratória e instabilidade hemodinâmica. O que ingeriu menor dose sobreviveu, entretanto desenvolveu insuficiência miocárdica e edema pulmonar. O outro desenvolveu severo edema cerebral e falência múltipla dos órgãos com desfecho letal.

Kucuker *et al* (2009) destacam que o endossulfam causa toxicidade com alterações histopatológicas em vários órgãos e os efeitos tóxicos aparecem poucas horas após a ingestão. Exame pós-morte evidenciou regiões de sangramento no cérebro e cerebelo, fígado com aparência microgranular e máculas acinzentadas e congestão renal. O exame histopatológico evidenciou isquemia cerebral, degeneração hepática, inflamação portal e congestão vascular, necrose parenquimal e dilatação sinusoidal; rim com infiltração de tecido intersticial linfocítico, necrose tubular epitelial e congestão vascular.

Estudando as características de pacientes com intoxicação aguda em uma área rural do Sri Lanka, Van der Hoek e Konradsen (2005) evidenciam que este inseticida foi responsável por 14 casos de intoxicação, dos quais 9 evoluíram para a morte, o que corresponde a uma letalidade de 64%. A gravidade da intoxicação pelo endossulfam também foi destacada por Roberts *et al* (2004) por meio da apresentação de caso de estado epiléptico refratário seguido de morte no Sul da Ásia.

Pankaj (2007) chama a atenção para a importância de incluir as crianças no grupo vulnerável à exposição por endossulfam, ao apresentar caso de intoxicação aguda em um menor de um ano de idade que evoluiu com convulsões generalizadas, comprometimento de funções hepáticas, caracterizado por alterações de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), hiperglicemia e hipocalcemia e taquicardia. O autor chama a atenção para a importância de incluir as crianças no grupo vulnerável à exposição por endossulfam, inclusive quanto à presença destas na proximidade de campos agrícolas.

Além dos relatos de casos clínicos, estudos populacionais têm demonstrado a importância epidemiológica da exposição ao endossulfam para a saúde pública.

Em estudo desenvolvido para obter informações acerca da tendência da incidência e causa de intoxicações agudas no Sri Lanka no período de 10 anos, Van der Hoek e Konradsen (2006) evidenciaram que dos 8.110 casos identificados, 64% decorreram de auto-intoxicação, 16% foram acidentais, 13% ocupacionais e 7% de causa desconhecida. O endossulfam foi responsável por 400 casos e 117 mortes, correspondendo a uma incidência de intoxicação de 19,55% e confirmando a alta taxa de letalidade (29,3%).

Bouvier *et al* (2006), comparando a exposição não ocupacional e ocupacional a agrotóxicos em Paris, coletou amostras por meio de “swab” (lavagem) de mãos dos expostos ao ar (24 h) nos ambientes internos de residências, floriculturas, sementeiras de estufa e lojas veterinárias. Os resultados demonstraram que o inseticida  $\alpha$ -endossulfam foi mais frequentemente identificado no ar do ambiente e que o grupo considerado não ocupacional apresentou níveis semelhantes e, em alguns momentos, mais elevados do que aqueles expostos ocupacionalmente.

Ch *et al* (2005), ao descreverem a frequência e distribuição de intoxicações por agrotóxicos atendidos em um grande hospital no Sri Lanka, evidenciam que o endossulfam foi um dos produtos mais utilizados e responsável por admissões hospitalares, apresentando uma taxa de letalidade de 22%.

Algumas situações de exposição massiva a endossulfam também são registradas na literatura e envolvem particularmente populações residentes em áreas rurais agrícolas, onde as condições de vida são precárias e determinantes no processo de intoxicação, como registram Mendoza *et al* (2006), Dewan *et al* (2004) e Venkateswarlu *et al* (1999), ao relatarem casos de intoxicação por exposição massiva aguda por endossulfam decorrente de armazenamento de alimentos em depósitos contaminados com o agrotóxico.

Os expostos apresentaram quadro clássico de intoxicação por endossulfam, com dor abdominal e muscular, náuseas, vômitos e depressão respiratória. Dentre os casos relatados por Mendoza *et al* (2006), 23% foram a óbito devido a insuficiência respiratória; os demais evoluíram para agravamento do quadro com apresentação de edema cerebral decorrente do estado convulsivo, fibrilação ventricular, insuficiência cardíaca e necrose tubular. Chama a atenção para o fato de que, os que sobreviveram à intoxicação aguda evoluíram para casos crônicos de hepatite crônica e anemia hemolítica.

Dewan *et al* (2004) relatam que em um episódio ocorrido em uma vila na Índia, vários habitantes foram envenenados provavelmente após ingerir durante algumas semanas alimentos contaminados com endossulfam. Foram afetadas 36 pessoas, e as crianças foram as primeiras a apresentar convulsões, havendo três mortes. Manifestações no SNC também foram observadas em estudo realizado por Venkateswarlu *et al* (1999), que relataram 44 casos de intoxicação por endossulfam após consumo de alimentos contaminados, onde foram observadas manifestações neurológicas tais como convulsões e perda de consciência, havendo uma morte.

A exposição aguda ao endossulfam também se reveste de importância para a gestão do setor saúde, uma vez que, conforme demonstram Wickramasinghe *et al* (2009), os gastos com ações de tratamento e prevenção de intoxicações correspondem a cerca de 2,8% de todos os gastos do setor saúde. Os custos com ações para tratamento de intoxicações por agrotóxicos são muito mais elevados

do que intoxicações por outras substâncias, pela necessidade de cuidados intensivos, o que requer, em muitos casos, transferir o paciente para outros centros com serviços de maior complexidade, particularmente nos casos agudos de intoxicação por endossulfam, cuja evolução na maioria dos casos é de gravidade elevada.

As intoxicações agudas decorrentes do endossulfam são um grave problema de saúde pública pelos seguintes aspectos: a) aspectos clínicos - gravidade do quadro de intoxicação, alta letalidade, seqüelas pós-intoxicação; b) epidemiológicos - grupos humanos vulneráveis a exposição; grande amplitude de exposição - rural, urbana, bacias hidrográficas e ecossistemas; c) ocorrência de acidentes ampliados; d) relevância para a saúde ambiental e e) alto custo para os sistemas públicos de saúde para tratamento de casos de intoxicações e das seqüelas.

#### 4.2. Toxicidade subcrônica

O dossiê de estudos toxicológicos, submetido pela empresa registrante de endossulfam à ANVISA, para fins de avaliação de efeito subcrônico, foi realizado em ratos Wistar e em cães Beagle, e a exposição foi realizada pela via oral (gavagem e dieta).

##### ESTUDO 1

**ANO DO ESTUDO: 2001**

**Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante**

**Espécie:** Rato (Wistar).

**Número de animais:** 20/grupo/sexo

**Doses:** ♂ - 0; 3,0; 10,0 e 30,0 mg/Kg/dia

♀ - 0; 1,0; 3,0; 10,0 e 30,0 mg/Kg/dia

**Via:** Oral (gavagem)

**Tempo de exposição:** 90 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 96,79%

Os animais foram tratados com dosagens de endossulfam por via oral (gavagem) cinco dias por semana durante 90 dias. O grupo controle recebeu apenas água destilada. Foram observadas alterações relacionadas ao tratamento, que incluem: redução significativa (30%) do ganho de peso nos animais (machos) tratados com a maior dose em relação ao grupo controle. Nas fêmeas tratadas com a mesma dose, essa redução não foi verificada, provavelmente porque metade (50%) do grupo morreu e os sobreviventes mostraram ganho de peso similar ao controle. Foi observada mortalidade (60%) no grupo de fêmeas tratadas com a dose de 10 mg/Kg/dia. Fêmeas tratadas com a menor dose (1,0 mg/Kg/dia) apresentaram redução de 25% do ganho de peso em relação ao controle, sendo que quatro apresentaram congestão pulmonar e em uma foi observado abscesso no lobo pulmonar.

Nove machos e quatro fêmeas tratados com 3,0 mg/Kg do ingrediente ativo apresentaram **lesões pulmonares, um macho apresentou hiperemia da bexiga e urina de cor avermelhada e em três animais foram observados formação de nódulos no jejuno.**

Entre os animais tratados com 10 mg/Kg da substância teste, seis machos e duas fêmeas apresentaram **lesões pulmonares. Foram observados pontos hemorrágicos no pulmão de três machos, outros três animais apresentaram lesões como petéquias pulmonares e ruído hipercreptante no pulmão.** Foram observados **nódulos no pâncreas** de um animal tratado com a dose intermediária (10 mg/Kg/dia). Duas fêmeas apresentaram **abscessos pulmonares**, sendo que em uma dessas o pulmão apresentou ruído hipercreptante.

Nos animais tratados com a maior dose, dois machos apresentaram **abscessos pulmonares** e entre estes, o pulmão apresentou ruído hipercreptante, em uma fêmea desse grupo de dose também foi observada tais ruídos pulmonares.

Com relação aos parâmetros bioquímicos foi observada uma **redução significativa dos níveis de uréia nos machos nas maiores doses quando comparadas ao controle. Aumento significativo nas concentrações de glicose, sódio e potássio** foi observado nos grupos de machos tratados com a

substância teste para todas as doses em relação ao controle. Fêmeas tratadas com endossulfam apresentaram **leve aumento da alanina aminotransferase (ALT) e aumento significativo da aspartato aminotransferase (AST)**. Esse tipo de alteração enzimática é observado em situações de **lesões hepáticas precoces quando ainda não é detectada ao exame microscópico e análise histopatológica**.

O estudo mostrou que o endossulfam apresenta efeitos tóxicos relevantes. Os principais foram: **a redução do peso corpóreo e alterações pulmonares graves**. Com base nesses efeitos o NOAEL foi fixado em 1,0 mg/Kg/dia.

## **ESTUDO 2**

**ANO DO ESTUDO: 1989**

**Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante**

**Espécie:** cães Beagle, linhagem BEAK (Hoechst)

**Número de animais por grupo de dose:** 6♂ e 6♀

**Doses:** 0, 3, 10 e 30 ppm e 30/45/60\* ppm (dieta)

**Observações:** \*Esse grupo foi iniciado aproximadamente 3 meses após os outros grupos. O nível de dose na dieta foi aumentado de 30 para 45 ppm após 54 dias; e foi posteriormente ajustado para 60 ppm após 106 dias. O estudo desse grupo terminou após 146 ou 147 dias.

**Via de exposição:** dieta

**Duração da exposição:** 1 ano

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 96,5%

O estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade em cães expostos a doses repetidas de endossulfam pela via oral (dieta) durante 1 ano. Os sinais de toxicidade foram observados em cães tratados com 30 ppm da substância teste poucas horas (entre duas horas e meia e seis horas) após receberem a substância teste na dieta, e incluem **decréscimo de ganho de peso, contrações tônicas dos músculos do abdômen e movimentos convulsivos das mandíbulas em ambos os sexos, sendo que em alguns casos essas contrações foram bastante violentas**. Os animais tratados com a maior dose, 60 ppm, foram sacrificados devido aos **graves sintomas neurológicos**. O ganho de peso total em machos que receberam 30 ppm da substância teste foi 30% menor que os controles. O consumo de alimento foi afetado nas maiores doses (30/45/60 ppm).

O “*low observed effect level*” (LOEL) para esse estudo foi de 30 ppm, baseado na diminuição do ganho de peso e nos sintomas neurológicos e o “*no observed effect level*” (NOEL) foi 10 ppm, o que equivale a 0,65 mg/Kg/dia para os machos e 0,57 mg/Kg/dia para as fêmeas.

### **4.3. Toxicidade crônica, carcinogenicidade e genotoxicidade**

A avaliação dos efeitos da exposição ao endossulfam foi baseada nos estudos encaminhados pela empresa registrante à ANVISA com o intuito de obter o registro dessa molécula, bem como em referências internacionais publicadas.

#### **ESTUDO 1 – Estudo de carcinogenicidade combinado com toxicidade crônica.**

Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante

**ANO DO ESTUDO: 1990**

**Espécie:** Rato, Sprague-Dawley

**Número de animais:** 50/dose/sexo (grupo principal) e 20/dose/sexo (grupo satélite)

**Doses:** 0; 3,0; 7,5; 15 e 75 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 104 semanas

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 97,1%

**Os animais receberam alimentação** com doses de endossulfam durante dois anos (104 semanas). O grupo controle recebeu apenas ração sem a substância teste. Dentre os efeitos observados destaca-se: **maior incidência de glomerulonefrose progressiva e aneurismas no grupo tratado com a maior dose** (tanto no grupo satélite como no grupo principal) quando comparado ao grupo

controle, sendo 43% e 27%, respectivamente, **maior a incidência de glomerulonefrose e aneurismas do que o normalmente observado nos controles históricos**. Nas fêmeas que receberam 75 ppm de endossulfam na dieta foram observados **aumento dos rins** em relação ao controle. Os machos tratados com a maior dose exibiram **aumento de nódulos linfáticos ampliados na região lombar** em comparação ao grupo controle. **A quantidade de leucócitos entre elas os linfócitos** foi menor nos machos tratados com a maior dose (75 ppm) quando comparado ao grupo controle.

Outros achados incluem: **lesão no miocárdio, hemossiderose no baço, degeneração cística do córtex da adrenal e degeneração de nervo periférico**. Foram observados também adenocarcinomas nas glândulas mamárias de fêmeas e adenomas na glândula pituitária anterior, atrofia testicular, inflamação de células do fígado e da próstata em todos os grupos, inclusive no controle e em ambos os sexos.

O NOEL estabelecido para esse estudo foi de 15 ppm, o que equivale a 0,65 mg/Kg/dia. **Corroborando os estudos de Ruckman *et al*, 1989; Gopinath; Cannon, 1990; Hack *et al*, 1995.**

## **ESTUDO 2 – Estudo de carcinogenicidade em camundongos**

**Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante**

**ANO DO ESTUDO: 1988**

**Espécie:** Camundongo, strain Hoe:NMRKf(SPF71)

**Número de animais por grupo de dose:** 10 ♂ e 10 ♀ por grupo – 12 meses (sacrifício ínterim); 10 ♂ e 10 ♀ por grupo – 18 meses (sacrifício ínterim) e 60 ♂ e 60 ♀ por grupo – 24 meses.

**Doses:** 0; 2; 6 e 18 ppm

**Via de exposição:** oral (dieta)

**Duração da exposição:** 24 meses (2 anos)

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 97,9%

O estudo foi conduzido com o intuito de avaliar a capacidade do endossulfam de causar tumores em camundongos. Os animais foram tratados com a substância teste na dieta durante 24 meses (grupo principal), sendo que dois outros grupos (grupos satélites) foram usados para analisar possíveis efeitos durante o estudo. Dentre as alterações observadas destacam-se: **a diminuição do peso corpóreo e do peso do fígado nos machos tratados com 18 ppm e o aumento da mortalidade e significativa diminuição do peso do pulmão e ovário** nas fêmeas que receberam a maior dose.

Baseado nesses efeitos, o NOEL do estudo foi de 6 ppm, equivalente a 0,84 mg/Kg/peso corpóreo nos machos e 0,97 mg/Kg/peso corpóreo nas fêmeas.

Além desses estudos relatados, o endossulfam é citado na literatura por diversos autores por seus efeitos genotóxicos, mitóticos, apoptóticos e mutagênicos. Seu potencial carcinogênico também é apontado na literatura científica, apesar de que para humanos ainda não há evidências suficientes de carcinogenicidade (NAQVI; VAISHNAVI, 1993).

A genotoxicidade do endossulfam foi avaliada por meio da análise crítica de estudos científicos publicados em periódicos internacionalmente reconhecidos. O quadro 4 mostra que a maioria dos estudos relevantes são positivos para efeitos genotóxicos do endossulfam. Também pode ser observado que apesar de haver poucos estudos para determinar a carcinogenicidade, alguns apontam que o efeito genotóxico como a inibição da apoptose, pode contribuir para a sobrevivência de células mutantes e, por conseguinte provocar, possíveis efeitos carcinogênicos (ANTHERIEU, *et al*, 2007).

O endossulfam tem sido avaliado quanto à genotoxicidade em uma variedade de ensaios *in vivo* e *in vitro*. Esses ensaios têm apresentado tanto resultados positivos quanto negativos, mas a maioria dos testes de mutagenicidade reportou resultados positivos (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

Os resultados de um estudo *in vitro* (LU *et al.*, 2000) no qual foram empregadas células Hep G2 (hepatoblastoma hepático humano) sugeriram que tanto o  $\alpha$ -endossulfam quanto o  $\beta$ -endossulfam

são genotóxicos para o referido tipo de célula em diferentes concentrações e por *endpoints* variados. A genotoxicidade do  $\beta$ -endossulfam parece ser mais pronunciada do que a do  $\alpha$ -endossulfam. Tanto o  $\alpha$ -endossulfam quanto o  $\beta$ -endossulfam causaram aumento significativo de quebras na fita de DNA, no entanto o  $\beta$ -endossulfam também causou aumento significativo de permuta entre cromátides irmãs e aumento na frequência de células micronucleadas. A não elucidação do mecanismo através do qual o processo ocorre, e a clastogenicidade do endossulfam sugerem a necessidade de mais estudos (LU *et al.*, 2000); essa atividade correlaciona-se fortemente com alta indução de expressão do gene para a enzima citocromo P450 3A (CYP3A) (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

Um estudo realizado com queratinócitos humanos (HaCaT) mostrou que o endossulfam causa danos ao DNA, altera a proliferação celular e inibe a apoptose, o que pode contribuir com a sobrevivência de células mutantes e levar a possíveis efeitos carcinogênicos (ANTHERIEU *et al.*, 2007).

Em algumas espécies de mamíferos, os estudos de genotoxicidade do endossulfam parecem fornecer evidências de que esse composto é mutagênico e clastogênico, e que induz efeitos na cinética do ciclo celular em algumas espécies de mamíferos. O endossulfam induziu aberrações cromossômicas e mutações gênicas em camundongos e moscas drosófilas (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

Shukla *et al* (2001) encontrou elevado teor de organoclorados (Endossulfam, BHC, DDT, Aldrin) em populações de duas regiões da Índia com elevada prevalência de câncer gastrointestinal.

**QUADRO 4 : Estudos realizados para avaliação da genotoxicidade do Endossulfam**

Objetivo do estudo:	Microorganismo/ Linhagem de células	Testes Realizados	Achados Relevantes	Resultado	Referência
Identificar efeitos mutagênicos, apoptogênicos e genotóxicos	Células da linhagem HaCat	Teste de fosforilação, inativação de radicais livres (ROS), estresse oxidativo por N-acetyl cysteine. Testes de efeitos mutagênicos (Ames positivo) e teste do cometa	Acúmulo de fosforilase no núcleo, inativação de radicais livres (ROS), bloqueio do estresse oxidativo por N-acetyl cysteine. Testes de efeitos mutagênicos (Ames positivo sem S9) e aumento de danos no DNA (Teste de cometa) em células HaCaT via mecanismo ROS dependente	Diminuição do crescimento celular, inibição da apoptose, o que pode contribuir para a sobrevivência de células mutantes e, por conseguinte, possíveis efeitos carcinogênicos	ANTHERIEU S. <i>et al.</i> (2007)
Identificar a capacidade do Endossulfam e seus metabólitos de induzir danos no DNA	Células ovarianas de hamster (CHO) Linfócitos humanos Salmonella	Teste do cometa em DNA de células ovarianas de hamster e em linfócitos humanos e mutagenicidade em Salmonella	Concentração de 0.25-10 $\mu$ M, causam erros no DNA de células ovarianas de hamster e em linfócitos humanos. O diol e o hidroxyether com 1-20 $\mu$ g/plate (TA98) causam mutagenicidade em Salmonellas	Indução de danos ao DNA e mutação.	BAJPAYEE M. <i>Et al</i> , 2006
Determinar a ação de 7 agrotóxicos de diferentes estruturas químicas e seus efeitos biológicos	Fagócitos e Linfócitos Humanos	Atividade metabólica dos fagócitos durante a fagocitose – Teste do Iodo-nitro-tetrazolium redutase (INT). Capacidade mitogênica do linfócito – teste de migração–inibição de leucócitos (LMIA)	O efeito citotóxico do endossulfam foi observado com a diminuição da migração espontânea dos leucócitos e com a diminuição da ativação dos linfócitos	Supressão da atividade metabólica dos fagócitos e ativação mitogênica do linfócito	PISTL, J. <i>et al.</i> (2003).

**Quadro 4: Continuação**

Objetivo do estudo:	Microorganismo/ Linhagem de células	Testes Realizados	Achados Relevantes	Resultado	Referência
Observar a influência do $\alpha$ e do $\beta$ -Endossulfam nos efeitos genotóxicos	Células humanas HepG2	Trocias cromossômicas, Frequência de micronúcleos e Quebras de DNA	$\beta$ -Endossulfam causa um significativo aumento de trocias cromossômicas (SCE) nas concentrações de $1 \times 10^{-7}$ M a $1 \times 10^{-5}$ M. Nas concentrações de $5 \times 10^{-5}$ M a $1 \times 10^{-3}$ M aumenta significativamente a frequência de micronúcleos. $\alpha$ -endossulfam induz aumento significativo de quebras de DNA nas concentrações de $2 \times 10^{-4}$ M a $1 \times 10^{-3}$ M.	Ambos são genotóxicos para células humanas HepG2	LU, Y. <i>Et al.</i> (2000).
Estudar a genotoxicidade do endossulfam em sistemas bacterianos	Bactérias: E. coli linhagem K12, AB1157: AB 1886: (u $\lambda$ rA 6), AB 2494: (lexA 1) e AB2463: (recA 13).	Teste de <i>umu</i> (cultura de <i>Salmonella Typhimurium</i> ) b-galactosidase actividade - método de Miller. Também foram observadas a frequência de mutação e a frequência de mutação induzida (nº de colônias resistentes e não resistentes a ampicilina)	Os sistemas de "repair-deficient" e "repair-proficient" de E. coli K12 foram sensíveis ao endossulfam, Endossulfam induziu profago $\lambda$ em células lisogênicas de E. coli WP2s e mutação em células E. coli K12 AB 1157 transformando células sensíveis a ampicilina em células resistentes à ampicilina.	Genotóxicos	CHAUDHURI K. <i>et al.</i> (1999).

#### 4.4. Toxicidade reprodutiva e sobre o desenvolvimento

##### ESTUDO 1

**Espécie:** Rato, Sprague-Dawley

**Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante**

**ANO DO ESTUDO:** 1982

**Número de animais:** 10/grupo/sexo

**Doses:** 0; 50; 75 e 100 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Duração da exposição:** Não informado

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 97%

O estudo foi realizado apenas para determinar os níveis de dose de endossulfam a ser usado no estudo de toxicidade reprodutiva em duas gerações. Três grupos de 10 machos e 10 fêmeas receberam endossulfam na ração. O grupo controle recebeu apenas ração sem a substância teste.

Os dados de autópsia revelaram aumento significativo na média de peso do fígado em todos os grupos tratados quando comparados ao controle. O peso da ninhada foi significativamente menor na dose de 75 ppm e em maior extensão na dose de 100 ppm. A maioria dos efeitos significantes do endossulfam técnico na reprodução foi a progressiva perda de indivíduos após o nascimento e a redução do peso da ninhada do nascimento ao 28º dia em todas as doses. O percentual de perdas na maior dose foi cinco vezes maior em relação ao controle.

O NOEL para esse estudo foi fixado em 50 ppm, baseado na redução do peso materno e da ninhada e aumento de perdas de ninhada.

##### ESTUDO 2

**Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante**

**ANO DO ESTUDO:** 1984

**Espécie:** Rato, Sprague-Dawley

**Número de animais:** Geração F0 – 32/grupo/sexo e Geração F1 – 28/grupo/sexo

**Doses:** 0; 3; 15 e 75 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Duração da exposição:** Não informado

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 97%

Os animais foram tratados com diferentes doses de endossulfam no período de seis a dezoito meses de idade, período em que ocorreu o acasalamento para produzir a ninhada F1a. Os filhotes da geração F1a foram sacrificados 21 dias após o parto e a geração F0 acasalada novamente para produzir os filhotes F1b. Após o desmame dos filhotes F1b, a geração F0 foi sacrificada. A geração F1b continuou com a dieta acrescida da substância teste por aproximadamente 98 dias antes do acasalamento para originar os filhotes F2a F2b, sacrificados após o desmame.

Nas ninhadas do primeiro acasalamento da geração F0 tratada com 75 ppm foi observado aumento cumulativo no percentual de perdas em relação ao controle e redução na média do peso das ninhadas. Os grupos tratados com 15 e 75 ppm exibiram diminuição na média do peso corpóreo em relação ao controle durante o segundo acasalamento, gestação e período pós-parto.

Análises do ganho de peso mostraram diferenças estatisticamente significantes entre fêmeas da geração F1b expostas a 03 ppm da substância teste em relação ao controle, bem como em machos da geração F0 tratados com a mesma dose de endossulfam e fêmeas tratadas com 75 ppm. A média de peso da ninhada na geração F0 foi significativamente menor que a observada no grupo controle. Foi observada redução do peso dos filhotes da geração F0 nos grupos tratados com 15 e 75 ppm.

Foi observada leve redução no peso médio da ninhada no segundo acasalamento da geração F1b nos grupos tratados com a maior dose.

**A exposição ao endossulfam na dieta produziu aumento no número de fêmeas sem filhotes viáveis.**

Quanto aos achados macroscópicos encontrados na geração F0, foi observado aumento no peso médio do coração nos machos tratados com qualquer uma das doses e, dos rins e do fígado, na maior dose.

As fêmeas apresentaram **aumento do peso médio do cérebro e do fígado na maior dose em relação aos controles**. No que tange as análises macroscópicas da geração F1b foi observado leve aumento no peso médio do fígado e **significativo aumento no peso médio dos rins nos machos tratados com a maior dose**; com relação às fêmeas, houve **aumento no peso médio do fígado** nas doses de 15 e 75 ppm e leve elevação no peso médio dos rins na maior dose quando comparado ao grupo controle.

Não houve estabelecimento de NOEL para esse estudo, uma vez que foram observados **sinais de descoloração amarelada nas células dos túbulos convolutos proximais** dos rins nos machos tratados **com todas as doses utilizadas. Sugerindo efeito nefrotóxico para baixas doses.**

### ESTUDO 3

**Estudo aportado na ANVISA pela empresa registrante**

**ANO DO ESTUDO: 1981**

**Espécie: Coelho (New Zealand)**

**Número de animais por grupo de dose: 20♀\***

**Doses: 0; 0,3; 0,7; e 1,8 mg/Kg/dia**

**Via de exposição: gavagem**

**Duração da exposição: período entre o 6º ao 28º (inclusive) de gestação.**

**Dia do sacrifício: 29º de gestação**

**Concentração do ingrediente ativo (pureza): 97,3%**

**\*Observação: O número de fêmeas na maior dose testada foi 26**

O estudo foi conduzido com o intuito de avaliar possíveis efeitos durante o **desenvolvimento embrionário** de coelhos expostos ao endossulfam. Foi verificada **pronunciada toxicidade materna e diminuição do ganho de peso corpóreo foram observados na maior dose. Toxicidade materna pode ter contribuído para quatro mortes na maior dose. Sinais de toxicidade no grupo que recebeu a maior dose incluem convulsões, respiração rápida e ruidosa, salivação e hiperatividade (4/20 coelhos).**

Observações patológicas grosseiras revelaram que **um animal que morreu durante o teste mostrou evidência de atividade hemorrágica.**

No grupo tratado com a maior dose, quatro animais morreram nos dias 7, 10, 21 e 29 de gestação. Dois animais com **malformação (caudas torcidas)** foram observados em uma ninhada do grupo tratado com a dose intermediária.

**Outras alterações e malformações foram observadas** no grupo tratado com a dose de 0,7 mg/Kg/dia, tais como: quatro fetos de uma ninhada com **alargamento auricular**, três fetos de uma ninhada com **ascite** (derrame de líquido na cavidade peritoneal) e um feto com uma artéria **subclávia esquerda acessória. Artéria carótida esquerda apresentando posicionamento anormal** foi encontrada em seis fetos de duas ninhadas na maior dose e um único feto no grupo controle.

Baseado nessas alterações, o NOEL materno foi de 0,7 mg/Kg/dia e o NOEL para a toxicidade do desenvolvimento 1,8 mg/Kg/dia. Quanto ao LOEL materno, foi estabelecido 1,8 mg/Kg/dia a dose sem efeito tóxico.

Ficou evidenciado que o endossulfam afetou o desenvolvimento embrionário e fetal no estudo aportado na ANVISA.

#### 4.4.1. Interface entre a desregulação endócrina e toxicidade reprodutiva

Os hormônios são importantes reguladores de células, tecidos e órgãos alvo, especialmente implicados na reprodução, no desenvolvimento e crescimento embrionário, fetal e infantil, no sistema nervoso central e no sistema imune. Os desreguladores endócrinos podem alterar a função sexual, função neurocomportamental e causar imunossupressão. Há evidências de que a desregulação endócrina está envolvida na indução de câncer de mama, testículo e próstata, assim como endometriose (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

Nos últimos anos tem crescido a preocupação acerca da toxicidade de substâncias químicas para o sistema reprodutivo de machos e fêmeas. É consenso na literatura científica que o endossulfam é um interferente endócrino para animais (mamíferos, pássaros, peixes, anfíbios) e para humanos. Pode-se considerar que este efeito se expressa em estágios de intoxicações (aguda, subaguda, subcrônica e crônica), seja por exposição ocupacional e ambiental, por ingestão de alimentos contaminados incluindo o leite materno e durante a vida intra-uterina.

O endossulfam pode afetar o sistema endócrino, e o metabolismo orgânico, através de sua atividade nas glândulas hipófise, tireóide, supra-renais, mamas, ovários e testículos, provocando efeitos no metabolismo do organismo, alterando a produção de hormônios, entre outros, do crescimento (GH), prolactina (PRL), adrenocorticotrófico (ACTH), estimulante da tireóide (TSH), folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH), triiodotironina (T3), tiroxina (T4), hormônios sexuais (BELDOMENICO *et al*, 2007) e outros interferentes endócrinos (ARNOLD *et al*, 1996).

O endossulfam por meio de várias maneiras pode influenciar a função hormonal normal (mimetizar, bloquear a síntese, ligar-se aos receptores de membrana, citoplasma ou do núcleo celular) e, assim, desencadear efeitos adversos reversíveis ou não. Como outros organoclorados já proibidos, o endossulfam tem atividade estrogênica e antiandrogênica e atravessa a barreira hematoencefálica. Em mulheres grávidas expostas, o endossulfam atinge o feto através do cordão umbilical e placenta e continua afetando a criança após o nascimento através da amamentação (CERRILLO *et al*, 2005; PATHAK *et al*, 2008).

O endossulfam foi relacionado a diversas manifestações típicas de desreguladores endócrinos em estudos realizados com animais: atrofia testicular, hiperplasia da paratireóide, aumento de peso da glândula pituitária e do útero, entre outros (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002).

Exposições ao endossulfam têm resultado tanto em alterações reprodutivas quanto em efeitos no desenvolvimento em animais não-alvo. A exposição ao endossulfam resultou em prejuízo do desenvolvimento de anfíbios, redução da secreção de cortisol em peixes, desenvolvimento prejudicado do trato genital de pássaros e níveis reduzidos de hormônios, de produção de espermatozoides e atrofia testicular em mamíferos.

A ação do endossulfam nas glândulas mamárias foi observada *in vivo* e *in vitro*. O endossulfam técnico e seus isômeros  $\alpha$  e  $\beta$  induziram a proliferação, *in vitro*, de células de câncer de mama humanas (MCF-7), os efeitos estrogênicos ocorreram em concentrações de 10-25  $\mu$ M (JE *et al*, 2005). Esses achados sugerem que o endossulfam e os organoclorados de modo geral podem estar diretamente envolvidos no desenvolvimento de câncer de mama, provavelmente devido ao seu potencial estrogênico (SOTO; CHUNG; SONNENSCHNEIN, 1994).

Foster e Agarwal (2002) mostraram a redução da fertilidade feminina por endometriose induzida pela exposição ao endossulfam.

Em estudos com animais, foram observados vários efeitos adversos em órgãos reprodutivos masculinos de ratos e camundongos: redução da fertilidade masculina com prejuízo da produção de espermatozoides, a qualidade do sêmen e a motilidade dos espermatozoides (DALSENTER *et al*, 1999). Observou-se testosterona testicular persistentemente diminuída em ratos machos após exposição oral,

de duração intermediária, ao endossulfam (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

A interferência na síntese dos hormônios sexuais mostrou retardo da maturidade sexual masculina, inclusive dos caracteres sexuais secundários em estudo realizado por Saiyed *et al*, 2003. Trata-se de uma investigação realizada em região montanhosa ao norte da Índia, onde houve aplicação aérea de endossulfam por mais de 20 anos, em plantações de caju. Este agrotóxico era empregado duas ou três vezes ao ano e era o único produto aplicado.

Realizou-se um estudo com meninos de 10 a 19 anos residentes em uma vila situada no sopé das plantações de caju. O estudo revelou que o nível médio de endossulfam em 117 meninos (10 – 19 anos) residente no local era significativamente mais elevado do que aqueles observados em 90 garotos que residiam a 20 km de distância da referida vila. A avaliação da maturidade sexual para desenvolvimento de pêlos pubianos, testículos, pênis e nível sérico de testosterona, foi relacionado à exposição aérea ao endossulfam. Os níveis de hormônio luteinizante (LH) séricos também se apresentaram relacionados à aplicação aérea de endossulfam. O estudo sugeriu que a exposição de crianças, do sexo masculino, ao endossulfam pode retardar a maturidade sexual, inclusive dos caracteres sexuais secundários, pela sua interferência na síntese de hormônio sexual (SAIYED *et al.*, 2003; HOND; SCHOETERS, 2006).

Estudo realizado na Califórnia mostrou a associação entre perda fetal e exposição materna durante a terceira e oitava semana de gestação pela proximidade da residência aos locais de aplicação de agrotóxicos, entre eles o endossulfam (Bell *et al*, 2001 a b). Em estudo experimental foi evidenciada a inibição da implantação do embrião no útero de camundongos (HIREMATH; KALIWAL, 2002).

Têm sido observados efeitos embriotóxicos em estudos com ratos, tais como aumento na porcentagem de reabsorções (abortos), variações esqueléticas, diminuição no peso e tamanho fetais e incremento no comportamento agressivo em ratos recém nascidos (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000). Apesar dos estudos com animais apresentados serem limitados, as evidências apontam claramente que o endossulfam tem potencial para produzir toxicidade no desenvolvimento embrionário para níveis igual ou inferior aos que produzem toxicidade materna (NAQVI; VAISHNAVI, 1993).

Dentre as malformações congênitas registradas na literatura científica, foram evidenciadas em estudos animais (ratos Wistar) anomalias ósseas e viscerais (SINGH *et al*, 2007<sup>a</sup>) e em humanos, hipospádia e criptorquidismo (GARCIA-RODRIGUEZ *et al*, 1996; TONGEREN *et al*, 2002; FERNANDEZ *et al*, 2007). Outras evidências experimentais mostram associação do endossulfam com hidrocele congênita, criptorquidia e hérnia congênita inguinal em crianças do sexo masculino (MICROMEDEX *apud* REIS, 2008).

É ilustrativo da toxicidade para a reprodução humana o caso relatado por Sancewicz-Pach *et al* (1997) que estudaram uma série de casos de intoxicações agudas ocorridas por agrotóxicos no período de 1986 a 1996. Entre eles foi diagnosticado um abortamento no quinto mês de gestação em uma mulher de 21 anos de idade após ter ingerido dose desconhecida de endossulfam. Nesse mesmo estudo observou-se que os fetos de mães expostas tinham concentração de agrotóxico no cordão umbilical superior ao do sangue materno.

O endossulfam demonstrou ligar-se ao receptor estrogênico humano e exibir significativa atividade estrogênica (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002).

Existem evidências de que o endossulfam age como um **desregulador endócrino em humanos**, com potencial para que este composto afete a síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação dos hormônios naturais do corpo que são responsáveis pela manutenção da homeostase, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002).

#### 4.5. Imunotoxicidade

O sistema imune é muito sensível e reage rapidamente a baixas doses frente a múltiplos químicos. Para os efeitos decorrentes dos agrotóxicos o sistema imune pode indicar toxicidade subclínica a baixas dosagens (PISTL *et al*, 2003). Vários estudos mostram que o endossulfam é tóxico e suprime o sistema imunológico assim como promove respostas alérgicas.

Estudos experimentais em animais indicam que tanto a resposta imune celular quanto a humoral ficam deprimidas após exposição oral ao endossulfam em doses que não induzem nenhum outro sinal visível de toxicidade. Também foi observado em células sanguíneas de carneiro significativa supressão de fagócitos, decréscimo da ativação de linfócitos e da migração (quimiotaxia) de leucócitos (PISTL *et al*, 2003).

Keenan (2003) realizou um importante estudo para investigar se o endossulfam e a permetrina induziam a apoptose em timócitos de camundongos *in vitro* e se a mistura desses inseticidas promovia citotoxicidade. Ambos endossulfam e permetrina induziram apoptose. Quando os inseticidas foram combinados havia um efeito potencializador de apoptose nas células do timo. As caspases<sup>1</sup> estão envolvidas no desenvolvimento de apoptose dos timócitos expostos a cada um dos inseticidas ou em mistura. As caspases estudadas foram 3, 8 e 9. Atividade significativa da caspase 3 foi observada nos timócitos expostos a ambos os inseticidas. Caspase 8 e 9 ambas foram ativadas nos timócitos expostos aos inseticidas sozinhos ou em combinação, mas foram mais expressivos na caspase 8. Mecanismos extrínsecos e intrínsecos de citotoxicidade em células do timo foram ativados tanto pelo endossulfam como pela permetrina.

Os efeitos imunossupressivos do endossulfam reconhecidos na literatura foram a diminuição na produção de anticorpos humorais; na resposta de imunidade celular: diminuição da função dos macrófagos; decréscimo de níveis séricos de IgG; decréscimo no título de anticorpos para toxina tetânica; inibição da quimiotaxia e da fagocitose dos leucócitos e incremento da relação albumina/globulina. Esses sinais surgem em baixas dosagens, antes que outros sinais clínicos sejam observados entre expostos (ATSDR, 2000; Abadin *et al*, 2006).

Endossulfam promove doença alérgica em humanos por estimular a degranulação de mastócitos, o que causa liberação rápida e dose dependente da  $\alpha$ -hexosaminidase (marcador para os grânulos que contém mediadores alérgicos pré-formados) dos mastócitos humanos e estimula a liberação mediada por IgE (Narita *et al* 2007).

Endossulfam também induz a morte de células T *natural killer*, as quais atuam na supressão tumoral (Kannan *et al*, 2000), de forma que o endossulfam agiria no desenvolvimento de tumores.

A AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR) conclui que há risco para o sistema imune de humanos expostos ao endossulfam. Observa que a anemia, desnutrição, doenças imunossupressoras e diabetes são agravos que aumentam a suscetibilidade às intoxicações por agrotóxicos bem como sua severidade (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

No quadro 5 estão apresentados alguns estudos que mostram efeitos imunotóxicos do endossulfam e sua relação com outros sistemas (neuro-endócrino) (AGGARWAL *et al*, 2008; AGGARWAL *et al*, 2009; ANTHERIEU, 2007; JIA; MISRA, 2007; KANAN, 2000; KEENAN, 2003; LONSWAY, 1997; PISTL, 2003).

---

<sup>1</sup> Caspases são proteases baseadas em cisteína capazes de clivar outras proteínas. Caspases são essenciais na apoptose celular. Algumas caspases também são necessárias no sistema imune, para a maturação das citocinas.

**Quadro 5: Alguns estudos de imunotoxicidade do endossulfam e a relação deste com os sistemas endócrino e nervoso**

Objetivo do estudo	Linhagem de células / Microorganismo / população/ animal	Desenho do estudo	Achados Relevantes	Resultado	Referência
<p>Determinar o efeito do endossulfam em mistura em células de timo de ratos C57/BL6; Elucidar o mecanismo pelo qual o endossulfam regula a apoptose em células imune</p>	<p>Células de timo de ratos C57/BL6</p>	<p>Teste histoquímico, de fluorescência (<i>in vitro</i>) de cultura de células de timo de ratos C57/BL6, expostas a mistura de agrotóxicos (endossulfam + permetrina), só ao endossulfam e só à permetrina.</p>	<p>Fluorescência relativa para células expostas ao endossulfam, à permetrina e à mistura de ambas substâncias.  Mensuração da atividade Caspase.</p>	<p>A apoptose causada pela exposição a ambos agrotóxicos (endossulfam e permetrina apresentam seus desfechos via ativação de caspases)  A indução de apoptose envolvendo a caspase 8 é maior.  A exposição a misturas de endossulfam e permetrina induzem apoptose de células de timo.</p>	<p>KEENAN, J. J. 2003.</p>
<p>Compreender os efeitos do endossulfam na função imunológica</p>	<p>Linfócitos sanguíneos, linfócitos esplênicos,</p>	<p>Experimento com pintinhos de dois dias de vida comparando-se três grupos: controle; alimentado com arsênico (3.7 ppm); e alimentado com endossulfam (30 ppm). Foi observado o peso corpóreo diário por trinta dias. Ao final foram extirpados o timo, o baço e a bursa de Fabricius. Linfócitos do sangue periférico e do baço foram separados para estudo de imunotoxicidade.</p>	<p>Foram observadas respostas linfoproliferativa; hipersensibilidade tardia; produção de nitritos por células mononucleares; e resposta de anticorpos para RD-F.</p>	<p>Diminuição do peso do timo, do baço e da bursa de Fabricius para a exposição prolongada. Linfoproliferação-diminuída, Hipersensibilidade e imunossupressão.</p>	<p>AGGARWAL, M. <i>et al.</i> 2008.</p>

**Quadro 5: Continuação**

Objetivo do estudo	Linhagem de células / Microorganismo / população/ animal	Testes Realizados	Efeitos Observados	Resultado	Referência
Investigar a ação do endossulfam como desregulador da homeostase epidérmica e os mecanismos de ação.	Células humanas da epiderme.	Cultura de células <i>in vitro</i> .	Ativação de desregulação de homeostase dérmica; efeito mitogênico e apoptogênico	-O endossulfam é um desregulador da homeostase epidérmica. Por meio de dois principais mecanismos: -Inibição da apoptose; - Dano ao DNA; -Mutação celular (evidência de carcinogênese)	ANTHERIEU, S <i>et al.</i> (2007).
Quantificar a exposição dérmica e respiratória para misturadores e aplicadores de Endossulfam, acefato e metamidofós, na cultura de tabaco e avaliar potencial risco	Trabalhadores da produção de tabaco.	Quantificação da exposição dérmica e respiratória de misturadores e aplicadores. Verificação da parte do corpo mais exposta. Verificação do nível de proteção dos equipamentos de segurança.	Estimativa de exposição.	-A exposição ao endossulfam foi notavelmente mais alta. Morte foi atribuída em parte ao endossulfam. A penetração dérmica do endossulfam através de DL50 para o endossulfam foi de 359 e o NOAEL foi de 3.	LONSWAY, J.A. <i>et al.</i> (1997).

**Quadro 5: Continuação**

Objetivo do estudo	Linhagem de células / Microorganismo / população/ animal	Testes Realizados	Efeitos Observados	Resultados	Referência
Avaliar a exposição simultânea (endossulfam e arsênico) e avaliar a indução de estresse oxidativo e efeito sobre o sistema anti-oxidante	Eritrócitos de pintinhos.	Métodos bioquímicos.	Avaliar a peroxidação lipídica. Atividade do superóxido dismutase Dosagens da catalase; do glutatiom peroxidase; glutatiom-S-transferase; diferentes ATPases e AchE; glicose sérica; níveis de glutatiom e de hemoglobina glicosilada no sangue.	Os principais resultados foram: O endossulfam aumenta a peroxidação lipídica; O endossulfam e a mistura diminuem a catalase e o nível de glutatiom. O endossulfam aumenta o nível de glicose sérica. O endossulfam diminui a atividade da Na <sup>+</sup> - K <sup>+</sup> - ATPase. Endossulfam e o arsênico aumentam o nível de GHb	AGGARWAL, M; <i>et al</i> . (2009).
Definir o mecanismo pelo qual o endossulfam induz morte em células T humanas.	Célula Jurkat (célula T humana de linhagem leucêmica)	Estudo <i>in vitro</i> . Análise bioquímica. Exposição das células a concentrações variadas de endossulfam (10-200 µM) por 0-48 h.	Indução de apoptose em células T da linhagem leucêmica em expostos ao endossulfam.	O endossulfam pode produzir apoptose em células humanas de linhagem leucêmica. Os dados do estudo suportam fortemente a disfunção mitocondrial e de estresse oxidativo da toxicidade do endossulfam.	KANAN, K. <i>et al</i> . (2000).

Esses resultados demonstram que a imunotoxicidade pode ser um parâmetro mais sensível de toxicidade induzida por endossulfam do que outros parâmetros, tal como, o da carcinogenicidade para na análise dos sérios riscos desse produto para a saúde humana (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

#### 4.6. Neurotoxicidade

##### **ESTUDO 1 – Estudo de Neurotoxicidade**

##### **ESTUDO APORTADO NA ANVISA**

**ANO DO ESTUDO: 1997**

**Espécie:** Ratos (Wistar)

**Número de animais por grupo de dose:**

**Doses (única):** ♀ - 0; 0,75; 1,5; 3,0; 6,0 e 12 mg/Kg/peso corpóreo

♂ - 0; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg/Kg/peso corpóreo

**Via de exposição:** oral (gavagem)

**Duração da observação:** 15 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 98,6%

O estudo foi realizado com o intuito de avaliar os efeitos neurotóxicos advindos de uma única dose de endossulfam. Seis machos que receberam 100 mg/Kg/peso corpóreo e uma fêmea tratada com 12 mg/Kg/peso corpóreo **morreram no dia da administração da dose.**

Machos tratados com 50 e 100 mg/Kg/peso corpóreo e fêmeas que receberam 6,0 e 12 mg/Kg/peso corpóreo **mostraram sinais clínicos poucas horas após a administração, tais como: postura descoordenada, respiração irregular e ofegante, diminuição da atividade, postura acocorada, convulsões tônico-clônicas, aumento da salivação, estreitamento da fissura palpebral, estupor (diminuição ou paralisação das reações intelectuais, sensitivas ou motrizes), pelos eriçados, membros traseiros escarranchados e reações de susto.**

Fêmeas tratadas com 3,0 mg/Kg/peso corpóreo apresentaram **postura afetada, respiração irregular, ânsia, decréscimo de atividade, postura acocorada, membros traseiros escarranchados, estreitamento da fissura palpebral, pelos eriçados.** Machos que receberam 25 mg/Kg/peso corpóreo exibiram **postura afetada, respiração irregular, decréscimo de atividade e postura acocorada. Os sintomas foram reversíveis um dia após a administração da substância teste.**

Baseado nesses achados o NOEL foi de 12,5 mg/Kg/peso corpóreo em machos e 1,5 mg/Kg/peso corpóreo em fêmeas tratadas com endossulfam. Estudos com utilização de doses ainda menores poderiam ter sido desenvolvidos, uma vez que com 3,0 mg/Kg/peso foi suficiente para desencadear alterações neuro-comportamentais.

##### **4.6.1. Mecanismo de Ação Neurotóxico**

A exposição a inseticidas organoclorados tais como o endossulfam pode levar às alterações mentais em decorrência da neurotoxicidade (HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2005). A estimulação do sistema nervoso central (SNC) é a principal característica da intoxicação por endossulfam nos casos de intoxicação aguda.

A estimulação do SNC é provocada pela ação antagonista dos ciclodienos nos receptores ionotrópicos do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), o que provoca a redução da captação dos íons de cloro. O bloqueio da entrada de íons pelo endossulfam resulta na repolarização parcial do neurônio, gerando um estado descontrolado de excitação. O endossulfam possui uma afinidade com receptores GABA do cérebro, agindo como um antagonista não competitivo (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000; BRANNEN *et al*, 1998; LE COUTEUR *et al*, 1999; GILBERT, 1992; GILMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2003 apud REIS, 2008 2003; HINCAL;

GÜRBAY; GIRAY, 1995; KARATAS; AYGUN; BAYDIN, 2006; RAMASWAMY; PURI; RAJEEV, 2008; ROLDAN-TAPIA *et al*, 2006; SUÑOL *et al*, 2008; UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2007; VALE *et al* 2003).

O endossulfam também altera os níveis cerebrais dos neurotransmissores dopamina, noradrenalina e serotonina por afetar a síntese, degradação, níveis de liberação e captação desses neurotransmissores (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000). Esse organoclorado ainda demonstrou capacidade para induzir apoptose celular por estimulação citotóxica (ação endócrina e imunotóxica) (AHMED, 2008; FRANCO *et al*, 2009; JIA; MISRA, 2007; KANNAN, 2000). O mecanismo apoptótico desempenha um importante papel na morte neuronal na doença de Parkinson (KANTHASAMY *et al*, 2005). A citotoxicidade do endossulfam provocando apoptose celular apóia a alegação de que doenças neurodegenerativas por morte celular provocadas por agrotóxicos podem, pelo menos em parte, estar associadas com apoptose precoce ou tardia de neurônios dopaminérgicos (JIA; MISRA, 2007), ver quadro 4.

Resíduos de endossulfam têm sido detectados em cérebros de ratos tratados com este agrotóxico (ANSARI; CHAN *et al*., 2005; SIDDIQUI; GUPTA, 1978; GUPTA, 1984) e em humanos (ALEKSANDROWICZ, 1979; BLANCO-CORONADO *et al*, 1992; BOEREBOOM *et al*, 1998; DEMETER *et al*, 1977).

O alvo do endossulfam é o córtex pré-frontal, que está envolvido em tarefas cognitivas, atenção seletiva, memória de curto prazo, inibição de resposta, variação comportamental, comportamento sexual e depressão (CABALEIRO *et al* 2008). Os efeitos comportamentais do endossulfam estão associados com sua ação nos mecanismos dopaminérgicos e serotoninérgicos (PAUL *et al*, 1995).

O neurotransmissor GABA apresenta importância no desenvolvimento do cérebro no período gestacional (ROBERTS *et al* 2007). Em teoria, a alteração do metabolismo do GABA pode desempenhar um papel na desordem de espectro autista (COHEN, 2001; ROBERTS *et al*, 2007). O endossulfam também tem efeitos idade e dose-dependentes sobre outros aminoácidos no córtex pré-frontal do cérebro (CABALEIRO *et al*, 2008).

Os isômeros do endossulfam como o  $\alpha$ -endossulfam,  $\beta$ -endossulfam e endossulfam sulfato têm efeitos citotóxicos em culturas de células gliais e neuronais de ratos e humanos (CHAN *et al*, 2006). Torres e colaboradores (2006) relatam que tanto o endossulfam quanto seus metabólitos foram encontrados no cordão umbilical, no leite materno e no soro de mulheres que deram a luz através de parto cesáreo, indicando que esses compostos atravessam a placenta e expõem o feto *in utero*, podendo provocar efeitos no desenvolvimento físico e nas funções cognitivas da criança. Um estudo realizado por Kang *et al* (2001) indica que o endossulfam pode inibir a diferenciação e proliferação de células pluripotentes do sistema neuronal durante o desenvolvimento, sugerindo que os efeitos neurotóxicos desse organoclorado estão relacionados à redução da produção de uma proteína envolvida no controle do crescimento celular e em fatores da transcrição nuclear. Segundo esse autor, a toxicidade também estaria relacionada à inibição de canais presentes na membrana das células pluripotentes do sistema neuronal, inibindo a diferenciação celular.

#### **4.6.2. Efeitos neurotóxicos e implicações para a saúde**

Os efeitos neurotóxicos do endossulfam parecem resultar da super estimulação do SNC, sendo esta a manifestação mais característica da exposição aguda ao endossulfam. Os sinais mais proeminentes da neurotoxicidade, tanto em humanos quanto em animais, são hiperatividade, tremores, ataxia, tontura, desequilíbrio, comprometimento da memória, diminuição da respiração, dispnéia, salivação, náusea, vômitos, diarreia, parestesia, vertigem, falência respiratória e cardíaca, convulsões tônicas e clônicas e coma. Convulsões são uma manifestação comum e severa e podem levar à epilepsia e ao estado epilético refratário. (ALEKSANDROWICZ 1979; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000; EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK, 1996; HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2005).

Além da neurotoxicidade, animais expostos ao endossulfam exibem diversos efeitos incluindo toxicidade renal e hepática, efeitos hematológicos, alterações no sistema imunológico e alterações nos órgãos reprodutivos de machos, cujos mecanismos de efeito seguem sendo investigados (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000).

O Endossulfam ainda pode causar efeitos comportamentais como agressividade, mesmo após cessação do estímulo, prejudicar o aprendizado e os processos de memorização, provocar sensibilidade extrema ao barulho e à luz, e provocar espasmos musculares (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000; PAUL *et al*, 1995). Gupta (1976) observou em estudo experimental realizado em ratos e camundongos hiperresponsividade a estímulos táteis e tremores violentos que se espalham pelo corpo. Agrawal *et al* (1983) e Zaidi *et al* (1985) também registraram aumento do comportamento agressivo provocado pelo endossulfam em ratos.

Exposições crônicas ao endossulfam também podem resultar em neurotoxicidade. Agricultores cronicamente expostos a esse agrotóxico apresentaram epilepsia, hiperatividade, irritabilidade, tremores, convulsões e paralisia (NAQVI; VAISHNAVI, 1993).

Em relação à exposição ocupacional, tanto alterações agudas como crônicas nas funções sensoriais, motoras, autonômicas, cognitivas e comportamentais foram observadas em pessoas após exposição a níveis relativamente altos de inseticidas e outros agrotóxicos (HODGSON; LEVI, 1996).

Aqueles que sofreram exposição ocupacional ao endossulfam exibiram efeitos primariamente neurotóxicos tais como convulsões, epilepsia, hiperatividade, irritabilidade, tremores e paralisia (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000; AGRAWAL *et al*, 1983; ALEKSANDROWICZ, 1979; NAQVI; UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2006), bem como sintomas neurocomportamentais manifestados por agitação, falhas na memória, afasia parcial, cognição limitada (ALEKSANDROWICZ, 1979), diminuição da coordenação motora e confusão mental (PAUL *et al*, 1995).

Alterações no eletroencefalograma para um padrão epileptiforme têm sido associadas a exposições ocupacionais ao endossulfam (HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK, 2005). Um piloto de avião-pulverizador exposto ao endossulfam mostrou focos epiléticos não específicos persistentes no lobo frontal (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2000). Um caso de inalação ocupacional em uma fábrica israelense de produtos químicos levou a danos cerebrais de longa duração com manifestações psiquiátricas. O trabalhador exposto sofreu deterioração cognitiva e emocional, severa perda de memória e incapacidade para realizar pequenas tarefas, com coordenação visual e motora prejudicada. A fase aguda incluiu mal estar, convulsões repetitivas e consciência enfraquecida, e após recuperação, a vítima se tornou agitada e desorientada. (ALEKSANDROWICZ, 1979).

Alguns estudos têm levantado a possibilidade de agrotóxicos estarem envolvidos na etiologia da doença de Parkinson (BROWN *et al*, 2006; LE COUTEUR *et al*, 1999; JIA; MISRA, 2007). Especula-se que a degeneração seletiva dos neurônios dopaminérgicos pode ser acelerada por agentes neurotóxicos exógenos como os agrotóxicos.

Há evidências crescentes que a exposição ao endossulfam pode aumentar o risco para o mal de Parkinson. Segundo Brown *et al* (2006) o peso da evidência é suficiente para concluir que existe uma associação genérica entre exposição a agrotóxicos e doença de Parkinson, sendo que a duração da exposição estaria associada a um risco aumentado no desenvolvimento da doença. Também existem outras evidências de que a exposição a agrotóxicos durante o período de desenvolvimento possa levar a um efeito neurodegenerativo ampliado, o que tornaria o sistema nervoso mais susceptível a exposições subseqüentes durante a fase adulta. Em um importante estudo experimental realizado por Jia e Misra (2007), evidenciou-se que camundongos recém-nascidos expostos ao endossulfam entre o 5 e o 19 dias de vida mostraram mudanças insignificantes nos níveis de dopamina, acetilcolinesterase e  $\alpha$ -sinucleína; entretanto, quando re-expostos na idade adulta, eles mostraram níveis significativamente diminuídos de dopamina, níveis elevados de  $\alpha$ -sinucleína e aumento da atividade da

acetilcolinesterase no cérebro. A perda de dopamina e o acúmulo de  $\alpha$ -sinucleína são ambos associados ao mal de Parkinson. (Ver quadro 5).

Um estudo recente ligou a exposição não ocupacional materna ao endossulfam e dicofol (organoclorados) ao autismo em crianças nascidas de mulheres que residiram até a 500 metros de locais de pulverização durante primeiro trimestre de gestação, sugerindo exposição por inalação. A taxa de autismo foi seis vezes maior que a esperada – possivelmente causada pela interferência do endossulfam na neurotransmissão mediada por GABA, que desempenha um papel importante no desenvolvimento cerebral durante a gestação (ROBERTS *et al*, 2007).

Pode-se afirmar que o endossulfam produz efeitos neurotóxicos em humanos e animais, compromete a formação do sistema nervoso central em fetos, pode provocar quadro clínicos severos nos indivíduos expostos, ocasiona danos permanentes à saúde e pode inclusive evoluir para o óbito, o que representa risco para a saúde pública.

## **5. Interação dos sistemas nervoso, endócrino e imunológico e repercussões sobre a saúde humana**

A interação recíproca entre os sistemas nervoso, endócrino e imunológico é a base de todos os mecanismos de coordenação e regulação (homeostáticos) das funções corporais. A tríade de interação recíproca, ou tríade da influência regulatória, dos processos fisiológicos e homeostáticos, caracteriza-se pelas interações que ocorrem entre os sistemas imunológico, endócrino e nervoso. Sendo assim, um xenobiótico com a capacidade de interagir diretamente com cada um desses eixos, pode desencadear efeitos adversos também nos outros.

Estudos recentes demonstraram que agravos que alteram a dinâmica dos sistemas imunológico, endócrino e nervoso podem estar associados ao desenvolvimento do câncer e alterações no sistema reprodutivo (GORDON, 2008).

As interações entre os sistemas nervoso, endócrino e imunológico ocorrem porque existe um compartilhamento de ligantes e receptores entre esse três sistemas fisiológicos (BLALOCK, 1994). Por exemplo, neurotransmissores, citocinas e hormônios, liberados a partir de diversos tipos de estímulos fisiológicos ou após o contato com agentes físicos, químicos ou biológicos podem atuar em receptores imunológicos alterando, conseqüentemente funções do sistema imune. Por outro lado, citocinas liberadas pelo sistema imunológico possuem a capacidade de se ligarem aos receptores dos sistemas neuro-endócrino, interferindo também com suas respectivas funções (WEIGENT; BLALOCK, 1995).

O sistema neuroendócrino constitui a base do controle do sistema reprodutivo, que requer ajustada orquestração do eixo hipotálamo-hipófise-gonadas para seu adequado funcionamento. Sabe-se que as interações hipotálamo-hipófise-gonadas são semelhantes nos machos e nas fêmeas. No entanto, observa-se que a liberação das gonadotrofinas e esteróides sexuais é relativamente constante nos machos, no entanto nas fêmeas obedece a variações cíclicas. Nas fêmeas, dependendo da fase do ciclo, o estrogênio pode exercer efeito modulador na hipófise, estimulando ou inibindo a secreção de LH-hormônio luteinizante (FOX, 1996; HAFEZ, 1998; ANTUNES-RODRIGUES; FAVARETTO, 1999; GONZÁLES, 2002). Por outro lado, a testosterona tem efeito oposto e estimula a secreção de FSH-hormônio folículo estimulante. A testosterona inibe preferencialmente a secreção de LH, e também exerce retroalimentação negativa (*feedback* negativo) sobre o hipotálamo, inibindo a secreção de GnRH-hormônio liberador de gonadotrofina (SHARPE, 1988; ANTUNES-RODRIGUES; FAVARETTO, 1999; GONZÁLES, 2002).

Quando há interação direta de um xenobiótico com células imunológicas ou indiretamente através dos sistemas nervoso e/ou endócrino ocorrem efeitos adversos complexos, em geral síndromicos. Nesse sentido, o estudo dos efeitos tóxicos sobre um ou mais sistemas, bem como a sua interação, é de extrema relevância para a avaliação da toxicidade de substâncias químicas.

Após a avaliação dos resultados dos estudos toxicológicos e epidemiológicos da presente Nota Técnica é possível concluir que o endossulfam é um composto neurotóxico com fortes evidências de ação desreguladora endócrina, exibindo efeitos de imunotoxicidade (diminuição da resposta imune humoral e celular) e efeitos sobre o sistema reprodutivo, portanto os seus efeitos estão relacionados com a tríade de interação recíproca, ou tríade da influência regulatória.

## 6. Aspecto Regulatório – A situação internacional do registro do endossulfam

O endossulfam tem sido extensamente reavaliado por autoridades regulatórias em todo o mundo. O uso deste produto foi banido em diversos países e tem sofrido restrições severas em outros.

A EPA finalizou em 2002 a reavaliação do endossulfam e concluiu que o mesmo pode apresentar riscos agudos e crônicos para a saúde humana e organismos terrestres e aquáticos. Segundo avaliação da agência americana, os usos do endossulfam na agricultura, baseados na rotulagem aprovada, apresenta riscos ocupacionais excessivos. Para minimizar os riscos à saúde humana e meio ambiente, a EPA impôs uma série de restrições ao produto: excluiu culturas da autorização de uso do produto, reduziu a dose máxima de aplicação, todas as formulações passaram a ser de uso restrito, as formulações ‘pó molhável’ foram obrigadas a ser acondicionadas em embalagens hidrossolúveis; algumas formas de aplicação foram excluídas, o intervalo de reentrada passou para no mínimo 48 horas, podendo chegar a 17 dias para algumas culturas, etc. A EPA ainda solicitou uma série de estudos adicionais para confirmar as avaliações regulatórias e conclusões (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002).

Além disso, a agência de proteção ambiental norte-americana (EPA) publicou recentemente (17 de abril de 2009) uma lista de substâncias químicas que participarão do programa de *screening* sobre os efeitos de desregulação endócrina. O endossulfam consta nessa lista, ou seja, haverá a obrigatoriedade de aporte de novos dados toxicológicos mais aprofundados e específicos para avaliar sua atuação também como possível desregulador endócrino (EPA, 2009b), reforçando a evidência já existente de o endossulfam causar também esses efeitos.

Em agosto de 2002, a agência reguladora canadense, *Pest Management Regulatory Agency* (PMRA), anunciou que os fabricantes do endossulfam no Canadá concordaram em adotar as mesmas medidas, para esse ingrediente ativo no Canadá, daquelas implantadas nos Estados Unidos. A PMRA, àquela época, também anunciou que seria realizada uma reavaliação do referido ingrediente ativo a fim de determinar se as medidas de gerenciamento do risco adotadas nos EUA proveriam segurança adequada no que se refere ao uso do endossulfam no Canadá. Em junho de 2004, a PRMA propôs algumas medidas provisórias de mitigação do risco que foram publicadas no documento intitulado ‘*Proposed Acceptability for Continued Registration (PACR)*’. Com o início da reavaliação, as empresas detentoras do registro do endossulfam técnico no Canadá (Bayer Cropscience e Makhteshim Agan of North America) solicitaram a retirada da indicação do produto para uso residencial, uso em plantas ornamentais, entre outros. A reavaliação do endossulfam foi publicada em outubro de 2007 e a avaliação de risco preliminar indicou preocupação com a situação dos trabalhadores e do meio ambiente, propondo classificação 1 para o endossulfam de acordo com a política do governo federal de manejo de substâncias tóxicas. Essa política clama a eliminação de substâncias de classe 1. A PMRA solicitou dados adicionais (estudo toxicológico, informações para melhor caracterizar riscos ocupacionais etc.) para aperfeiçoar a avaliação de risco antes de propor ações regulatórias.

A diretiva 91/414/EEC da União Européia (UE) dispõe que, substâncias que não estejam incluídas na lista positiva da EU (anexo 1), não podem ser utilizadas em agrotóxicos. A avaliação da segurança do uso do endossulfam foi realizada pelos estados membros e pela comissão e finalizada em 15 de fevereiro de 2005, com a conclusão de que o referido produto não satisfaz os requisitos mínimos de segurança, para ser incluído na lista positiva de agrotóxicos que podem ser utilizados naquele bloco econômico.

O endossulfam é volátil, seu principal metabólito é persistente e já foi encontrado em regiões onde a substância não é utilizada. Outro problema identificado foi o possível impacto em operadores em ambientes fechados. Conseqüentemente, por meio da diretiva 2005/864/EC, a comissão decidiu não incluir o endossulfam na lista positiva da comunidade (Anexo I da diretiva 91/414/EEC). A autorização para qualquer uso do endossulfam expirou em 31 de dezembro de 2007.

A Agência Australiana Responsável pela Avaliação e Registro de Agrotóxicos e Medicamentos Veterinários (APVMA) iniciou, em 1995, uma revisão do endossulfam devido a preocupações acerca de riscos para o público em exposições, de curto e longo prazo, os resíduos de

endossulfam (particularmente em criação de animais, névoa em aplicações em algodão e outras culturas de áreas extensas), saúde ocupacional, segurança e meio ambiente. Em 2005 a APVMA concluiu o relatório final de revisão do endossulfam. Uma das principais preocupações foi prevenir a ingestão de resíduos de endossulfam por gado. A APVMA impôs zonas obrigatórias de proteção para pulverização e notificação da vizinhança antes da aplicação do produto. Animais de criação não devem ser alimentados com pasto, forragem ou alimento tratado com endossulfam. Na revisão a APVMA intensificou as restrições no fornecimento e uso do endossulfam. O endossulfam não deve ser utilizado em vegetais folhosos, frutos tipo baga (incluindo uvas), bananas, sorgo e milho, amendoins, vegetais leguminosos, vegetais bulbosos, milho-verde, vegetais do grupo da couve (exceto repolho (cabeça) brócolis e couve-flor) (AUSTRALIAN GOVERNMENT AUTHORITY RESPONSIBLE FOR THE ASSESSMENT AND REGISTRATION OF PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES, 2005).

O endossulfam foi banido no Sri Lanka em 1998, após ter sido associado a índices elevados de estados epiléticos e mortes após auto-intoxicações. O número de mortes relacionadas ao composto, no Hospital Geral de Anuradhapura (Sri Lanka), caiu rapidamente após o banimento: de 50 em 1998 para 37 em 1999, 5 em 2000 e 3 em 2001. Também se verificou uma queda no total de mortes relacionadas a agrotóxicos. Revisão dos registros da 'Intensive Care Unit' (ICU) dos anos de 1998 a 2001 mostrou uma redução similar nas internações hospitalares e mortes por endossulfam: houve 10 admissões em 1998, 17 em 1999, 2 em 2000 e nenhuma em 2001 (ROBERTS *et al.*, 2006).

O endossulfam foi banido no estado do Kerala (Índia). A instalação do processo de banimento ocorreu após crescente preocupação acerca do risco de trabalhadores e aldeões ser intoxicados. O Instituto Nacional de Saúde Ocupacional do país finalizou, em 2002, um relatório dos efeitos do agrotóxico que concluiu que amostras de água, coletadas 10 meses após a aplicação de endossulfam em uma vila, ainda apresentavam resíduos de endossulfam. Mesmo a detecção de quantidades pequenas de resíduos de endossulfam, significa exposição contínua da população, uma vez que as aplicações se estendem há mais de 20 anos. O estudo realizado pelo Instituto Nacional de Saúde Ocupacional também constatou diminuição no Quociente de Inteligência (QI) e piora no desempenho escolar das crianças expostas ao endossulfam. Foram pesquisadas 170 crianças expostas e 92 crianças não expostas, que serviram de controle. A prevalência de anormalidades congênitas, tais como alterações cardíacas e anormalidades esqueléticas, também foi mais elevada entre as crianças expostas (KUMAR, 2002).

Os Países Baixos baniram todos os usos do endossulfam baseado em uma avaliação de risco nacional. Concluiu-se que a aplicação de endossulfam, seguindo-se as boas práticas agrícolas, resultaria em contaminação de águas de superfície que afetariam significativamente organismos aquáticos (especialmente peixes). A contaminação de águas de superfície com o endossulfam ocorreria como resultado de deriva durante a aplicação. Assumindo um fator de 10% para a deriva, obteve-se um valor de 0,014 mg/L para a concentração do endossulfam. Comparando-se essa concentração com a menor LC50 para peixes (0,00017 mg/L) resultou em um fator de risco de 82, que foi considerado inaceitável (PRIOR INFORMED CONSENT PROCEDURE, 2005).

A Tailândia impôs restrições severas ao endossulfam, banindo as formulações concentrado emulsionável e granulares. Essa decisão baseou-se em uma avaliação de risco nacional. Um levantamento, em cinco províncias, para avaliar o uso do endossulfam no controle de lesmas em arrozais, mostrou que aproximadamente 94% dos agricultores utilizavam agrotóxicos e que, desses, 60 a 76% utilizavam endossulfam. Foram relatadas mortalidade de peixes e outros organismos aquáticos em todas as províncias. Chegou-se à conclusão de que as formulações concentrado emulsionável e granulares são muito tóxicas para peixes e organismos aquáticos (PRIOR INFORMED CONSENT PROCEDURE, 2005).

Por fim, pelo menos em sete países da África (Burkina Faso, Cabo Verde, Gâmbia, Mali, Mauritània, Níger e Senegal) o endossulfam teve o registro proibido pelas preocupações de seu impacto à saúde humana, principalmente considerando o cenário de exposição ocupacional.

## **7. Atualização dos dados, estudos e informações após a publicação da Nota Técnica**

### **7.1. Toxicidade Endócrina do endossulfam**

#### **7.1.1. Desregulação endócrina**

O sistema endócrino está envolvido na regulação dos processos metabólicos do organismo como os processos nutricionais, comportamentais, reprodutivos, funções cardiovasculares, renais e intestinais. O sistema endócrino é composto de: (i) glândulas localizadas por todo o organismo; (ii) hormônios liberados por essas glândulas que funcionam como “mensageiros químicos”; (iii) receptores presentes em diversos tecidos que reconhecem os hormônios e, em resposta a essa ligação, desencadeiam cascatas de sinalização e eventos.

A toxicidade endócrina, ou desregulação endócrina é um efeito adverso que interfere com uma ou mais das diversas funções desempenhadas pelo sistema endócrino.

Por conseguinte, os desreguladores endócrinos (DE) são definidos como quaisquer substâncias (ou misturas) exógenas que alteram funções do sistema endócrino e, conseqüentemente causam efeitos adversos em um organismo, sua prole ou (sub) populações (GOLDMAN et al., 2000; INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2002).

Os mecanismos pelos quais os DE desencadeiam os efeitos tóxicos são bem variados e envolvem a interferência com a ligação, ação, transporte, liberação, metabolismo, produção ou eliminação de hormônios naturais responsáveis pela manutenção da homeostase e regulação de processos do desenvolvimento (KAVLOCK et al, 1996). Alguns agrotóxicos têm o potencial de produzir alterações no sistema endócrino através da ligação a receptores específicos de hormônios esteróides, como o estradiol, a testosterona e a progesterona, antagonizando ou estimulando o sistema endócrino (KAVLOCK et al., 1996).

Os DE podem atuar mimetizando os hormônios naturais (endógenos). Quando isso ocorre pode haver a estimulação excessiva da função realizada pelo hormônio natural (ex: aumento de massa muscular pela ação do hormônio do crescimento) ou o aparecimento de respostas em períodos inapropriados (ex: puberdade precoce, produção de insulina desnecessária). Os DE também podem atuar bloqueando receptores de hormônios e diminuindo ou aumentando a síntese dos hormônios naturais (INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, 2002).

Além dos efeitos adversos descritos anteriormente, a interação constante entre os sistemas endócrino, imunológico e o nervoso deve ser considerada durante a avaliação dos efeitos tóxicos induzidos por substâncias químicas. Essa interação ocorre principalmente através do hipotálamo, pituitária, adrenais, tireóide e gônadas, uma vez que esses órgãos compartilham receptores e moléculas sinalizadoras, presentes nos três sistemas (ADER et al, 1991).

Os estrógenos atuam sobre o crescimento, diferenciação e funcionamento de diversos tecidos, incluindo os sistemas reprodutivo feminino e masculino como útero, ovário, glândulas mamárias, testículo e próstata, manutenção e sistema cardiovascular (BAXTER; RIBEIRO; WEBB, 2004).

Os estrógenos são produzidos principalmente nos ovários e testículos e atravessam as células, sendo mantidos nas células-alvo através da ligação a receptores de estrógenos (RE) intranucleares (NILSSON et al, 2001).

Dois tipos de RE foram descritos, RE $\alpha$  e RE $\beta$  que possuem domínios estruturais e funcionais semelhantes. A ação dos estrógenos ou xenoestrógenos através do mecanismo genômico envolve a ligação com os RE, que sofrem alterações conformacionais, permitindo que se liguem a elementos responsivos a estrógenos (ERE) no DNA (MURDOCH; GORSKI, 1991). Os ERE são promotores de genes-alvo e resultam na ativação da transcrição de genes relacionados as funções desempenhadas e reguladas pelos estrógenos (NILSSON; GUSTAFSSON, 2002; HALL; COUSE, KORACH, 2001).

Os estrógenos ou xenoestrógenos também podem desempenhar seus efeitos de desregulação endócrina através de mecanismos não-genômicos. Nesse caso pode ocorrer a interação com receptores de membrana e proteínas regulatórias, proteínas transportadoras, fatores de transcrição, cascatas de fosforilação, vias de sinalização e enzimas envolvidas na síntese de hormônios esteróides (NILSSON et al, 2001; ALYEA; WATSON, 2009; WATSON; GAMETCHU, 1999; ROSENFELD; GLASS,

2001; MCKENNA; O'MALLEY, 2002; HERMANSON; GLASS; ROSENFELD, 2002; SMITH; O'MALLEY, 2004; JAKACKA et al, 2001).

Os desreguladores endócrinos podem desencadear seus efeitos tóxicos através de apenas um dos mecanismos descritos na literatura: LIGAÇÃO, AÇÃO, TRANSPORTE, LIBERAÇÃO, METABOLISMO, PRODUÇÃO ou ELIMINAÇÃO de hormônios (KAVLOCK et al, 1996). Estudos científicos mostraram que o endossulfam é um agrotóxico desregulador endócrino tendo seus efeitos desencadeados por diversos desses mecanismos de ação.

### **7.1.2. Estudos de ligação e ativação transcricional de receptores andrógenos (RA), de estrógenos (RE) e de progesterona (RP)**

Existem testes preconizados pelas diretrizes internacionais que propõe avaliar a capacidade de LIGAÇÃO de uma substância com receptores de hormônio e sua possível interferência com a AÇÃO de um hormônio endógeno ou de genes responsivos a eles. Essa ligação pode desencadear efeitos agonistas ou antagonistas que podem ser distinguidos a partir dos testes de ativação transcricional.

O endossulfam mostrou atividade anti-androgênica em estudos que avaliaram a ligação ao RA em diferentes linhagens celulares, como nas células CHO-K1 (KOJIMA et al, 2004; ROY et al, 2004; ANDERSEN et al, 2002), células PALM (LEMAIRE et al, 2004) e células NIH3T3 (VISWANTH et al., 2010),

Já em estudos que avaliaram a ligação com o RE o endossulfam mostrou potencial estrogênico nas linhagens de células MCF-7 (ANDERSEN et al, 2002; SOTO; CHUNG; SONNENSCHNEIN, 1994; WADE et al., 1997; ARCARO et al, 1998; ANDERSEN et al., 2002 RAMAMOORTHY et al., 1997) e células CHO-K1 (KOJIMA et al., 2004). Entretanto os estudos de Shelby et al. (1996) e Ashby et al. (1997) não reproduziram esses efeitos.

O endossulfam mostrou capacidade de se ligar a RP, mostrando atividade anti-progesterona em células de levedura (CHATERJEE et al, 2008).

É importante destacar que esses testes não oferecem informações abrangentes quanto ao espectro de efeitos tóxicos em sistemas biológicos de alta complexidade, com diversas possibilidades de interação através de mecanismos genômicos e não-genômicos.

### **7.1.3. Teste uterotrópico em roedores**

O teste uterotrópico avalia a capacidade de uma substância em alterar o peso do útero em fêmeas de roedores imaturas sexualmente ou ovariectomizadas, três dias após a exposição. Estudos com camundongos (SHELBY et al., 1996) e ratos (ASHBY et al., 1997; WADE et al., 1997) expostos ao endossulfam não induziram o aumento do peso do útero no teste uterotrópico.

O teste uterotrópico não permite avaliar a interferência de uma substância com outros mecanismos de ação de desregulação endócrina. Isso pode ser comprovado pelo estudo de Varayoud e colaboradores (2008) onde ratos tratados com doses baixas de endossulfam não apresentaram efeito uterotrópico, mas causaram a down-regulation de genes responsivos a estrógenos, como os de RE $\alpha$ , progesterona e fator complemento 3 (VARAYOUD et al., 2008).

### **7.1.4. Interferência com mecanismos de ação não-genômicos mediados por RE**

Diversos outros estudos foram encontrados na literatura que permitiram elucidar aspectos mais sutis da interação do endossulfam com o sistema endócrino ou com mecanismos de interferência e regulação hormonal.

Foi demonstrado que a ativação transcricional do endossulfam, descrita em estudos citados anteriormente, depende da sua ligação com a região promotora do cofator pSp13. Resultados desse

estudo, associados com outros relatos de testes *in vivo* e *in vitro* com xenoestrógenos, sugerem que o endossulfam é um modulador seletivo de receptor de estrogênio (SERM) e que sua atividade agonista de RE $\alpha$  não pode necessariamente ser inferida a partir da simples ligação de RE e testes de ativação transcricional (WU et al, 2008). Os SERM podem atuar de maneira distinta dependendo do tecido e receptor presente (NILSSON et al, 2001)

Em outros estudos foi demonstrado que a interferência com o sistema endócrino do endossulfam pode ocorrer pela ativação de cascatas de quinases (MAPK e P13-K) independente da presença de receptores de estrogênio (LI et al, 2006). O endossulfam também apresentou capacidade de interferir com histonas, proteínas presentes no DNA (ZHU; EDWARDS; BOOBIS, 2009).

Concentrações muito baixas de endossulfam (nanomolar) interferiram com o transporte de íons cálcio (Ca<sup>2+</sup>). Essa interferência aumentou os níveis de cálcio intracelular, estimulando a liberação de prolactina (WOZNIAK et al, 2005; WATSON et al, 2007). O endossulfam, também em concentrações muito baixas, interferiu com outro transporte celular de extrema importância, inibindo o efluxo de dopamina (ALYEA; WATSON, 2009). Alterações nos níveis de dopamina e no desenvolvimento neuronal de ratos expostos ao endossulfam corroboraram os efeitos observados nos transportadores celulares (LAKSHMANA; RAJU, 1994; JIA; MISRA, 2007).

Os hormônios estrógenos e andrógenos são transportados por proteínas ligantes de hormônios sexuais. O endossulfam pode interferir com o TRANSPORTE de hormônios uma vez que interferiu de maneira negativa com a ligação da proteína ligante de esteróides de peixes (GALE; PATINO; MAULE, 2004).

O endossulfam também interfere com o METABOLISMO, a PRODUÇÃO e a ELIMINAÇÃO dos hormônios esteróides. A esteroidogênese consiste da síntese de hormônios esteróides a partir do colesterol e consiste de etapas subsequentes de conversão catalisadas por diversas enzimas.

Ratos foram tratados com 2,5; 5,0; 7,5 e 10 mg de endossulfam por kg de peso corpóreo, durante por 7 ou 15 dias (via oral). Os níveis de 3 beta-hidroxiesteroide desidrogenase, 17 beta-hidroxiesteroide desidrogenase e da enzima de conjugação citosólica, glutathiona-S-transferase estavam aumentados 7 dias após o tratamento. Nesse estudo não houve alteração de peso de órgãos e peso corpóreo, demonstrando que sem esses sinais indicadores de toxicidade sistêmica, o endossulfam atua de maneira direcionada sobre essas enzimas (SINGH; PANDEY, 1989).

Em outro estudo (SINGH; PANDEY, 1990), ratos tratados com 7,5 e 10 mg/kg por 15 ou 30 dias (via oral), também sem alteração de peso de órgãos, peso corpóreo ou proteínas, foi observada a inibição das atividades das enzimas 3 $\beta$ - e 17 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase, glutathiona-S-transferase e proteínas citocromo P450. Nesse estudo também estavam diminuídos os níveis dos hormônios folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH) e testosterona. O FSH e LH são liberados pela pituitária e desencadeiam a liberação dos hormônios testosterona e estrogênio pelas gônadas (BAXTER; RIBEIRO; WEBB, 2004).

Em camundongos machos e fêmeas expostos a 3,8; 7,5; 15 mg/kg/dia de endossulfam durante 7 dias por via oral, foi observado o aumento dose-dependente da formação do metabólito hidroxitesterona e da testosterona 16 $\alpha$ -hidroxilação, 6 $\beta$ -hidroxitesterona e 16 $\beta$ -hidroxitesterona. Paralelamente também foi observado um aumento da eliminação urinária de andrógenos na dose de 7,5 mg/kg de endossulfam (WILSON; LEBLANC, 1998).

Outra enzima de grande importância na formação de hormônios sexuais é a aromatase cuja atividade mostrou-se alterada na presença de endossulfam (ANDERSEN et al, 2002; LAVILLE, et al.2006). A enzima aromatase é responsável pela conversão de precursores andrógenos em estrógenos (LINGAPPA; MELLON, 2004).

### **7.1.5. Interferência com mecanismos de indução de tumores e interferência com os sistemas imunológico e neurológico**

Existem registros que os desreguladores endócrinos podem contribuir para o aumento da incidência de câncer de mama, próstata e testículo (GLASS; HOOVER, 1990; ADAMI et al., 1994; TOPPARI et al., 1996).

O endossulfam aumentou a produção de um metabólito alternativo do estradiol, 16- $\alpha$  hidroxiestrona que é conhecidamente um potente carcinógeno (BRADLOW et al, 1995).

O endossulfam também aumentou a expressão e a atividade da enzima telomerase, ativada por estrógenos em tecido isolado de mama de camundongos (JE et al, 2005). A telomerase encontra-se ativada em 85% a 90% dos tumores humanos e inativada em células normais (PERINI et al. 2008). A ativação da telomerase em células cancerosas inativa o relógio telomérico, que limita a capacidade proliferativa de células somáticas normais, logo sugere-se que o alongamento do telômero pode ser uma etapa importante na formação de tumores.

Além da associação com alguns mecanismos carcinogênicos, o endossulfam, como todo desregulador endócrino, pode mediar efeitos sobre os sistemas imunológico e neurológico (ALYEA; WATSON, 2009; VARAYOUD et al, 2008; NARITA et al, 2007; LAKSHMANA; RAJU, 1994; JIA; MISRA, 2007).

### **7.1.6. Interface da desregulação endócrina com a toxicidade reprodutiva**

A desregulação endócrina do endossulfam desencadeia efeitos sobre órgãos e funções reprodutivas como demonstrado em diversos estudos experimentais e epidemiológicos.

Efeitos sobre órgãos e funções reprodutivas foram descritos em diferentes estudos. Em roedores foi observada a diminuição significativa do número de espermatozoides na cauda do epidídimo e de espermátides nos testículos e redução da produção espermática diária (SINHA et al, 2001; SINHA et al, 1995; SINHA et al, 1997; DALSENTER et al, 1999; PANDEY, 1990). Também foram descritos o aumento do número de espermatozoides anormais (SINHA et al, 1995; SINHA et al, 1997; PANDEY et al, 1990; DALSENTER et al, 1999), a diminuição da percentagem de túbulos seminíferos apresentando espermatogênese completa (DALSENTER et al, 1999), a diminuição do peso dos testículos, epidídimos, vesícula seminal e próstata (SINHA et al, 1995; SINHA et al, 1997; SINHA et al, 2001; DALSENTER et al, 1999; CHITRA et al, 1999; BEAUVAIS, 2007), alteração na síntese de hormônios (testosterona, LH e FSH) e nas enzimas de biosíntese de andrógenos (SINGH, PANDEY, 1990; CHITRA et al, 1999).

Estudos epidemiológicos mostraram a associação do endossulfam e outros agrotóxicos com alterações nos sistema reprodutivo masculino, como hipospádia e criptorquidismo, e feminino, como redução da fertilidade feminina (CERRILLO et al, 2005; PATHAK et al, 2008; FOSTER; AGARWAL, 2002; GARCIA-RODRIGUEZ et al, 1996; TONGEREN et al, 2002; FERNANDEZ et al, 2007; SAIYED et al, 2003). Mesmo considerando a limitação dos estudos epidemiológicos, os achados dos estudos experimentais realizados em culturas de células ou com animais de laboratório demonstram a plausibilidade biológica dos efeitos encontrados em humanos e o peso das evidências da desregulação endócrina do endossulfam.

### **7.1.7. Considerações finais sobre a desregulação endócrina do endossulfam**

- O endossulfam mostrou atividade estrogênica e anti-androgênica através de mecanismos genômicos e não-genômicos, como a interferência com cascatas de sinalização, fatores de transcrição, enzimas de síntese e metabolismo e eliminação de hormônios esteróides.

- Alguns efeitos causados pelo endossulfam, ocorrem após exposição a concentrações muito baixas. Tais achados dificultam determinar níveis seguros de exposição, principalmente de efeitos que ocorrem a níveis de interação molecular, como a ligação ao DNA.
- Os efeitos de desregulação endócrina do endossulfam sobre diversos fatores relacionados a hormônios sexuais foram corroborados por estudos experimentais e epidemiológicos.
- A desregulação endócrina promovida pelo endossulfam causa efeitos não somente em tecidos e funções reprodutivas, mas pode atuar sobre mecanismos indutores e tumores e sobre os sistemas nervoso e imunológico.
- A interação com moléculas distintas, envolvidas em diversos eventos celulares e funções fisiológicas em tecidos disseminados pelo organismo, pode dificultar a diminuição ou reversão dos efeitos tóxicos através de mecanismos compensatórios homeostáticos.
- Além disso, a capacidade do endossulfam de promover a desregulação endócrina através de mais de um mecanismo (LIGAÇÃO, AÇÃO, TRANSPORTE, LIBERAÇÃO, METABOLISMO, PRODUÇÃO ou ELIMINAÇÃO) destaca o elevado potencial de toxicidade do endossulfam nesse importante sistema de regulação de diversas funções fisiológicas essenciais a manutenção da vida e das espécies.

## **7.2. Situação internacional do endossulfam atualizada**

Na Tabela 1, segue a descrição atualizada da situação internacional do endossulfam.

**Tabela 1:** Situação internacional atualizada sobre o registro do endossulfam.

País	Data do Ato	Motivo para saúde humana	Site
União Europeia (Alemanha, Áustria, Bélgica, Bulgária, Chipre, Dinamarca, Eslováquia, Eslovênia, Espanha, Estônia, Finlândia, França, Grécia, Hungria, Irlanda, Itália, Letônia, Lituânia, Luxemburgo, Malta, Países Baixos, Polónia, Portugal, Reino Unido, República Checa, Romênia e Suécia)	03/12/2005	Exposição ocupacional inaceitável em todos os cenários de exposição autorizados, mesmo com o uso de equipamentos de proteção individual. Dessa forma, a decisão foi de sua não inclusão na lista positiva do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC. O endossulfam não está autorizado desde 02/06/2006 e nenhuma nova autorização foi concedida ou renovada desde 03/12/2005.	<a href="http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oi/2005/l_317/l_31720051203en00250028.pdf">http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oi/2005/l_317/l_31720051203en00250028.pdf</a>
Estados Unidos	03/08/2010	O endossulfam apresenta risco inaceitável aos trabalhadores agrícolas, sobrepondo aos seus limitados benefícios à lavoura e aos consumidores. Além disso, o endossulfam persiste no meio ambiente, aumentando a exposição. Os dados desenvolvidos desde 2002 mostraram que os riscos que os trabalhadores que aplicam o endossulfam se submetem, bem como aqueles que efetuam a colheita dos alimentos ou conduzem a atividade nos campos depois da aplicação desse agrotóxico, são inaceitáveis. Os riscos desses trabalhadores são maiores do que previamente era sabido, e em muitos casos, excedem aos níveis de preocupação da Agência. Os manipuladores também demonstram enfrentar riscos muito preocupantes na maioria dos cenários, mesmo quando utilizam todos os equipamentos de proteção individual, ou quando são feitos o máximo de controle, como por exemplo, uso de sistemas fechados para mistura/abastecimento desse agrotóxico, ou em cabines fechadas. Para muitas culturas, os intervalos de re-entrada nas áreas tratadas com endossulfam, necessários para proteger os trabalhadores pós-aplicação, não são factíveis, pois resultariam na impossibilidade desses trabalhadores conduzirem o cultivo e a colheita das culturas. A Agência decidiu pela proibição total do agrotóxico em 2016 e o detalhamento da descontinuidade ( <i>phase out</i> ) do endossulfam está no <i>link</i> relacionado.	<a href="http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/endosulfan/endosulfan-candl-is.html">http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/endosulfan/endosulfan-candl-is.html</a> <a href="http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/endosulfan/endosulfan-agreement.html">http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/endosulfan/endosulfan-agreement.html</a>

Nova Zelândia	10/12/2008	Os riscos para saúde humana foram determinados para um número de usos padronizados e cenários de exposição (durante a aplicação por nebulização - <i>spray</i> , pós-aplicação ocupacional, exposição do trabalhador no momento de re-entrada nas áreas tratadas, exposição não intencional – vizinhanças, exposição residencial e exposição em campos gramados para prática de esportes tratados com endossulfam). As conclusões da avaliação de risco foram: o endossulfam tem um alto risco de toxicidade aguda, pelas vias oral e inalatória, sendo menos tóxico pela via dérmica. A neurotoxicidade é o efeito primário observado e ocorre tanto exposição aguda ou crônica; não há nenhuma informação disponível sobre a exposição em quaisquer cenários de exposição possíveis, então todas as exposições foram estimadas por meio de modelagem, onde era possível; os riscos foram inaceitáveis em cenários de exposição não intencional – vizinhança - e exposição residencial, em aplicação tratorizada com turbo atomizador, na cultura de citros. A agência (ERMA) considerou que os riscos decorrentes da exposição ao endossulfam são maiores que os benefícios do seu uso. A decisão passou a ter efeito em 16/01/2009.	<a href="http://www.ermanz.govt.nz/news-events/focus/endosulfan/index.html">http://www.ermanz.govt.nz/news-events/focus/endosulfan/index.html</a>
Colômbia	23/03/2001	O endossulfam foi banido pelo Ministério da Saúde, em função de intoxicações e mortes ocorridas no país. No entanto, há ainda casos de mortes e intoxicações mesmo após o banimento (vide notícia, site ao lado, 2007)	<a href="http://co.vlex.com/vid/52575499">http://co.vlex.com/vid/52575499</a> (banimento) <a href="http://news.xinhuanet.com/english/2007-08/04/content_6471548.htm">http://news.xinhuanet.com/english/2007-08/04/content_6471548.htm</a>
Noruega	01/01/1999	O endossulfam é extremamente tóxico e houve inúmeros casos de intoxicações pelos trabalhadores, decorrentes de exposição ocupacional.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Tailândia	19/10/2004	No passado, o uso contra a <i>Pomacea bridgesi</i> acabou exterminando os organismos aquáticos do país. Motivo do banimento foi ambiental.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Burkina Faso	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Cabo Verde	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Costa do Marfim	01/01/1998	Os trabalhadores, em sua maioria, não são capacitados/treinados, e assim não seguiam as precauções necessárias quando utilizavam o produto. Não utilizavam o produto para os fins autorizados. Nas áreas rurais, o produto era armazenado próximo às áreas residenciais. Os trabalhadores industriais também estavam em risco devido à falta de equipamentos de proteção apropriados. Os estudos conduzidos no país demonstram presença de resíduos de endossulfam nos alimentos e na água potável, e considerando a alta toxicidade do produto, representam riscos inaceitáveis aos humanos. O banimento foi realizado com o objetivo de reduzir os riscos e preservar a saúde humana.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Gâmbia	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Guiné-Bissau	31/12/2008	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Ira	12/12/2009	O endossulfam é extremamente tóxico pelas vias oral e inalatória, e menos tóxico pela via dérmica. Ele ateta primariamente o sistema nervoso. Os efeitos tóxicos foram observados em estudos com animais, desde os agudos, subcrônicos até os de neurotoxicidade do desenvolvimento, e os crônicos e de carcinogenicidade, e o efeito principal foi a neurotoxicidade, resultante da super estimulação do sistema nervoso central. Os trabalhadores são os principais expostos aos riscos, e geralmente não são capacitados/treinados e não tomam as medidas de precaução necessárias para o uso desse agrotóxico. Nas áreas rurais, o endossulfam é armazenado próximo às casas das pessoas. Algumas vezes, nota-se o uso não autorizado. Os trabalhadores geralmente não se atentam e não seguem as recomendações expressas em rótulo/bula.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Jordânia	01/01/1994	O endossulfam é altamente persistente no ambiente, no solo e na água subterrânea.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FRA-Parties-BYChem-List.asp</a>

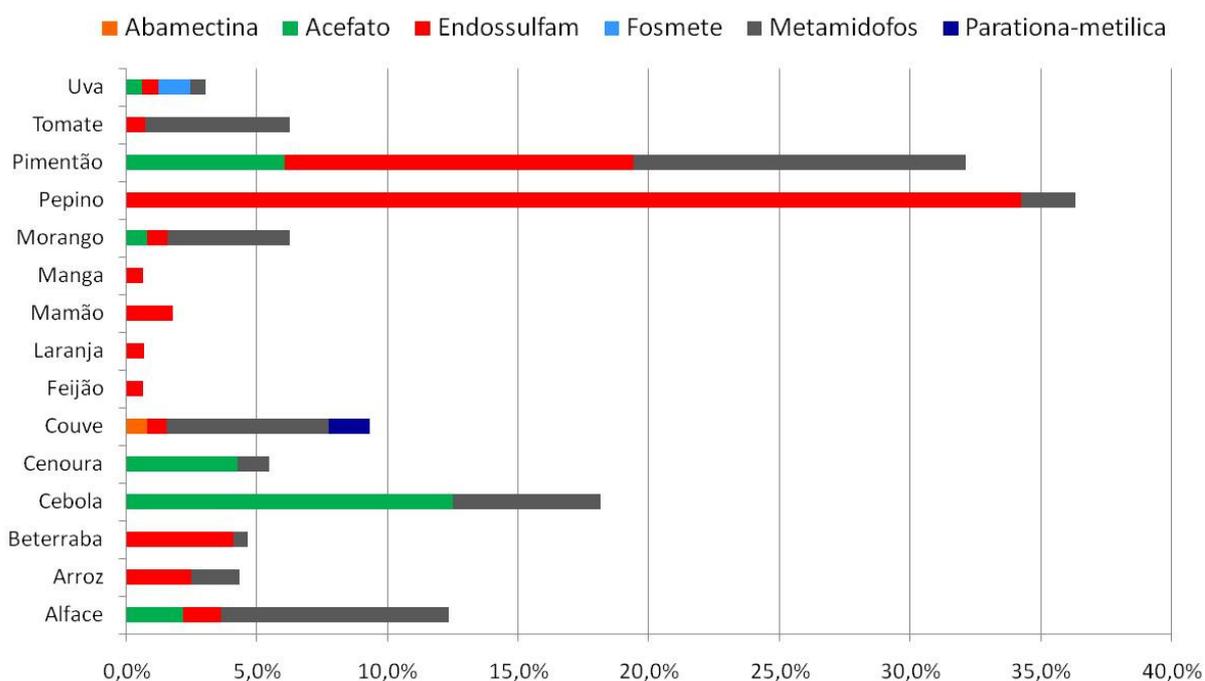
Malásia	15/11/2005	O endossulfam era amplamente utilizado de forma não autorizada em arrozais, como um moluscicida e rodenticida. Durante a revisão dos registros de agrotóxicos considerados problemáticos, o endossulfam foi considerado como tal. Foram identificados muitos casos de intoxicações e uso na tentativa de suicídios. O banimento foi feito, pois há muitas outras alternativas custo-efetivas que são muito menos tóxicas comparadas ao endossulfam.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Mali	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Mauritânia	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Nigéria	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp</a>
Senegal	13/11/2007	O endossulfam é extremamente tóxico e o risco de intoxicação dos trabalhadores nas condições de uso da região saheliana é considerado inaceitável.	<a href="http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp">http://www.pic.int/Reports/FHA-Parties-BYChem-List.asp</a>

### 7.3. Dados do PARA de 2009

No ano de 2009, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos – PARA, da ANVISA analisou 20 culturas alimentares (abacaxi, alface, arroz, banana, batata, beterraba, cebola, cenoura, couve, feijão, laranja, maçã, mamão, manga, morango, pepino, pimentão, repolho, tomate e uva). Destas culturas, nenhuma possui autorização de uso do agrotóxico endossulfam. No entanto, os resultados demonstram que em 14 dessas culturas houve a presença do endossulfam. No caso do pepino, 54,8% das amostras analisadas foram consideradas insatisfatórias, sendo que 34,25% foram em função da presença de endossulfam.

A Figura 01 mostra um gráfico contendo os resultados insatisfatórios, por cultura alimentar, considerando apenas os ingredientes ativos de agrotóxicos que estão em reavaliação toxicológica na ANVISA. Em vermelho, destacam-se os resultados do endossulfam.

Figura 01: Percentual de resultados insatisfatórios com IAs em reavaliação



A prática ilegal, constatada pelos resultados do PARA, apresenta duas consequências negativas: a primeira é a exposição do trabalhador rural a um agrotóxico que apresenta extrema toxicidade aguda e crônica, motivo pelo qual foi colocado em reavaliação pela ANVISA.

A segunda consequência é que a utilização do endossulfam em culturas não autorizadas implica no aumento do risco dietético de consumo de resíduos desses agrotóxicos por toda a população, uma vez que esse uso não foi considerado no cálculo do impacto na Ingestão Diária Aceitável (IDA). O risco se agrava à medida que o agrotóxico é encontrado em um número maior de alimentos comercializados para a população, e, no caso do endossulfam, a situação é muito preocupante já que a maioria absoluta das culturas analisadas apresentou esse agrotóxico não autorizado.

## 8. Considerações Finais

O endossulfam é um agrotóxico da classe dos organoclorados, cuja elevada toxicidade para a saúde humana e ambiental levou a severas restrições ou proibição de uso em diversos países.

A exposição oral, inalatória, ocular ou dérmica ao endossulfam pode desencadear efeitos agudos severos à saúde humana tais como: danos hepáticos, respiratórios, irritação ocular e até a morte.

Os estudos aportados pelas empresas na ANVISA demonstraram que tanto as características toxicológicas agudas, quanto as características toxicológicas crônicas do endossulfam, são preocupantes. Há elevada toxicidade aguda oral e inalatória, assim como toxicidade dérmica. Os testes experimentais de irritação ocular em animais mostram que o endossulfam causa opacidade da córnea, sendo extremamente irritante para os olhos. Segundo classificação toxicológica da ANVISA, o endossulfam enquadra-se na classe TOXICOLÓGICA I: Produto Extremamente Tóxico.

Os estudos de toxicidade crônica realizados em animais de laboratório para avaliar o potencial carcinogênico encontrados na literatura científica são inúmeros. São descritos efeitos genotóxicos, como dano ao DNA e clastogenicidade, e efeitos não-genotóxicos como a inibição da apoptose. Ambos são extremamente importantes para avaliar o potencial carcinogênico de uma substância.

A genotoxicidade, quando presente em regiões específicas do DNA, como nos proto-oncogenes e genes supressores de tumor, pode dar origem a células alteradas e com indução da proliferação. É importante ressaltar que efeitos genotóxicos não são dose-dependentes, ou seja, basta uma molécula do agente químico para que o efeito, como a neoplasia, se estabeleça de forma irreversível. Dessa maneira, não existem limites de segurança para a exposição a esse tipo de agente.

Os efeitos genotóxicos que podem levar a perda do controle da proliferação celular podem ser minimizados, e não necessariamente levarem à indução de neoplasias, quando os mecanismos compensatórios – como a indução de apoptose e a imunovigilância – estão preservados.

Entretanto, já foi descrito: o endossulfam inibe a apoptose, mecanismo fisiológico que, dentre outras funções, induz a morte de células alteradas. A imunovigilância é uma propriedade do sistema imunológico de identificar agentes infecciosos e células do organismo alteradas (potencialmente pré-neoplásicas) e ativar populações celulares com o intuito de eliminá-los. Esse importante mecanismo de proteção fisiológica é prejudicado em condições de imunossupressão. O endossulfam foi identificado como agente imunossupressor das respostas do tipo celular e humoral através de estudos realizados com células humanas e animais.

O sistema imunológico, por outro lado, também está intrinsecamente relacionado a outros dois sistemas: nervoso e endócrino. A neurotoxicidade aguda do endossulfam é bastante caracterizada, e efeitos crônicos como epilepsia, hiperatividade, convulsões e paralisia podem se manifestar, conforme relatado em vários estudos.

A função endócrina pode ser alterada pela exposição ao endossulfam, conforme demonstrado em estudos epidemiológicos e em animais de laboratório. O endossulfam é considerado um desregulador endócrino já que induz diversos efeitos histopatológicos em tecidos reprodutivos, redução e atraso da fertilidade e diversas alterações hormonais. Alguns efeitos no sistema endócrino podem ser reversíveis, ou seja, cessada a exposição, a toxicidade desaparece. Entretanto, quando a exposição ocorre em momentos críticos do desenvolvimento reprodutivo os resultados desses efeitos são persistentes.

Tal evidência pode ser explicada pelo fato dos hormônios desempenharem suas funções fisiológicas através da ligação com receptores específicos nos órgãos de ação. Considerando, principalmente, o desenvolvimento reprodutivo, tanto os hormônios (ligantes) como seus receptores específicos são produzidos em momentos cruciais do desenvolvimento do indivíduo, como a pré-adolescência. Já durante o declínio da idade reprodutiva, como a menopausa, existe a diminuição da produção de estrogênios e de seus receptores. Consequentemente, mesmo que os níveis de hormônio voltem ao normal após o fim da exposição a um desregulador endócrino, ele pode não desempenhar sua função fisiológica normal já que os seus receptores podem estar diminuídos.

Os efeitos adversos à saúde humana observados em estudos epidemiológicos e experimentais permitem concluir que o endossulfam possui características negativas importantes do ponto de vista da segurança humana. Alguns órgãos e mecanismos fisiológicos de importância fundamental para a manutenção da homeostase são afetados durante e após a exposição ao endossulfam, como o fígado, rins e sistema hematopoiético.

Entretanto, os efeitos adversos mais deletérios associados a esse agrotóxico organoclorado referem-se à genotoxicidade, toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento, neurotoxicidade, imunotoxicidade e toxicidade endócrina ou hormonal. Portanto, podemos concluir que o endossulfam exerce seus efeitos tóxicos sobre a tríade da interação recíproca, ou tríade da influência endócrina.

A identificação desses efeitos é o principal embasamento para o banimento do endossulfam no Brasil segundo a Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989).

*Lei Federal nº 7.802 de 11/07/1989*

*Artigo 3º [..]*

*“§ 6º - Fica **proibido** o registro de agrotóxicos, seus componentes e afins:*

*c) - que revelem características teratogênicas, **carcinogênicas** ou **mutagênicas**, de acordo com os resultados atualizados de experiências da comunidade científica;*

*d) - que provoquem **distúrbios hormonais**, danos ao **aparelho reprodutor**, de acordo com procedimentos e experiências atualizadas na comunidade científica;” ...*

Além disso, no mercado nacional existem outros produtos com as mesmas propriedades inseticidas e acaricidas que o endossulfam. Dessa maneira o seu banimento não ocasionaria prejuízo relevante às práticas agrícolas do ponto de vista econômico e ainda seria crucial para a minimização dos riscos de eventos adversos nas populações humanas expostas.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografia Endossulfam**. [200-]. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/e02.pdf>>. Acesso em: 03/03/2009.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). [**Toxicological Profile for Endossulfam**], 2000. Disponível em: < <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp41.html>>. Acesso em 19/03/2009.

- AGGARWAL, M. *et al.* Effects of subchronic coexposure to Arsenic and Endossulfam on the Erythrocytes of Broiler Chickens: a bBiochemical Study. **Arch Environment Contam Toxicol**, v. 56, p. 139-148, 2009.
- AGGARWAL, M. *et al.* Perturbations in immune responses induced by concurrent subchronic exposure to arsenic and endossulfam. **Toxicology**, v. 251, p. 51-60, 2008.
- AGRAWAL, A. K. *et al.* Involvement of serotonergic receptors in endossulfam neurotoxicity. **Biochem pharmacol**, v.32, p. 3591-3593, 1983.
- AHMED, T. *et al.* Endossulfam-induced apoptosis and glutathione depletion in human peripheral blood mononuclear cells: attenuation by N-acetylcysteine, **J Biochem Mol Toxicol**, v. 22, p. 299-304, 2008.
- ALEKSANDROWICZ, D. R. Endossulfam poisoning and chronic brain syndrome. **Arch Toxicol**, v. 43, n. 1, p. 65-68, 1979.
- ALMEIDA *et al.* **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1976-1985, 2007.
- ANDRADE FILHO, A.; CAMPOLINA, D.; DIAS, M. **Toxicologia na prática clínica**. 2. ed, Belo Horizonte: Editora Folium, 2001.
- ANSARI, R. A.; SIDDIQUI, M. K.; GUPTA, P. K. Toxicity of endossulfam: distribution of alpha- and beta-isomers of racemic endossulfam following oral administration in rats. **Toxicol Lett**, v. 21, n. 1, p. 29-33, 1984.
- ANTHERIEU, S. *et al.* Endossulfam decreases cell growth and apoptosis in human HaCaT keratinocytes: partial ROS-dependent ERK $\frac{1}{2}$  mechanism. **J Cell Physiol**, v. 213, p. 177-86. 2007.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; FAVARETTO, A. L. V. Sistema reprodutor. In: AIRES, M. de M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 877-917.
- AUSTRALIAN GOVERNMENT AUTHORITY RESPONSIBLE FOR THE ASSESSMENT AND REGISTRATION OF PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES (APVMA). [**Endossulfam**]. Disponível em: <<http://www.apvma.gov.au/chemrev/endossulfam.shtml>>. Acesso em: 21 jan. 2009.
- ARAUJO, A. C. P.; NOGUEIRA, D. P.; AUGUSTO, L. G. S. Impacto dos praguicidas na saúde: estudo da cultura de tomate. **Ver. Saúde Pública**, v. 34, n. 3, p. 309-313, 2000.
- ARNOLD, S. F. *et al.* Synergistic Activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. **Science**, v. 272, n. 5267, p. 1489-1492, 1996.
- BAJPAYEE, M. *et al.* DNA damage and mutagenicity induced by endossulfam and its metabolites. **Environ Mol Mutagen**, v. 47, p. 682-92. 2006
- BEDOR, C. N. G. *et al.* Avaliação e Reflexos da Comercialização e Utilização de Agrotóxicos na Região do Submédio do Vale do São Francisco. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 31, n. 1, p. 68-76, jan/jun 2007.
- BLANCO-CORONADO *et al.* Acute intoxication by endossulfam. **Clinical Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 575-583, 1992.
- BLALOCK J.E. Shared ligands and receptors as a molecular mechanism for communication between the immune and neuroendocrine systems. **Ann N Y Acad Sci**. v. 5, n. 741, p.292-298.
- BOEREBOOM, F. T. *et al.* Nonaccidental endossulfam intoxication: a case report with toxicokinetic calculations and tissue concentrations. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 36, n. 4, p. 345-352, 1998.

BOUKORI, H. *et al.* **Endossulfam Sulfate Mobility in soil Columns and Pesticide Pollution of Groundwater in Northwest Morocco.** *Water Environment Research*, v. 79, n.13p. 2578-2584.2007.

BOUVIER, G.; BLANCHARD, O.; MOMAS, I.; SETA, N. Pesticide exposure of non-occupationally exposed subjects compared to some occupational exposure: a French pilot study. **Sci Total Environ**, v. 366, n. 1, p. 74-91, 2006.

BRANNEN, K. C.; DEVAUD, L. L.; LIU, J.; LAUDER, J. M. Prenatal exposure to neurotoxicants dieldrin or lindane alters tert-butylbicyclophosphorothionate binding to GABA(A) receptors in fetal rat brainstem. **Dev Neurosci**, v. 20, p. 34-41, 1998.

BRASIL assina a convenção de Estocolmo sobre poluentes orgânicos persistentes. Disponível em <<http://www.pee.mdic.gov.br/arquivo/secex/ghs/noticias/20020523popAssina.pdf>>. Acesso em 01/02/2009.

BROOKES, K. B. *et al.* Introduction of pharmacophoric groups into polycyclic systems. Part 4. Aziridine, oxiran and tertiary b-hydroxyethylamine derivatives of adamantane. **South African Journal of Chemistry**, v. 45, p. 8-11, 1992.

BROWN, T. P. *et al.* Pesticides and Parkinson's Disease – Is There a Link? **Environmental Health Perspectives**, United Kingdom, v. 114, n. 2, feb. 2006.

CABALEIRO, T. *et al.* Effects of in utero and lactational exposure to endossulfam in prefrontal cortex of male rats. **Toxicology Letters**, v. 176, p. 58-67, 2008.

CARRENO, J. *et al.* Exposure of young men to organochlorine pesticides in Southern Spain. **Environmental Research**, v. 103, p. 55-61, 2007.

CASTRO, J. S. M.; CONFALONIERI, U. Uso de agrotóxicos no Município de Cachoeiras de Macacu (RJ). **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, n. 2, p. 473-482, 2005.

CERRILLO, I. *et al.* Endossulfam and its metabolites in fertile women, placenta, cord blood, and human milk. **Environ Res**, v. 98, n. 2, p. 233-239, 2005.

CH, S. R. *et al.* Pesticide poisoning in south India: opportunities for prevention and improved medical management. **Trop Med Int Health**, v. 10, n. 6, p. 581-588, 2005.

CHAUDHURI, K. *et al.* Studies on the genotoxicity of endossulfam in bacterial systems. **Mutat Res**, v. 439, p. 63-7. 1999

CHAN, M. P. L. *et al.* Development of an in vitro blood-brain barrier model to study the effects of endossulfam on the permeability of tight junctions and a comparative study of the cytotoxic effects of endossulfam on rat and human glial and neuronal cell cultures. **Environmental Toxicology**, v. 21, n. 3, p. 223-235, 2006.

CHAN, M. P. L. *et al.* Toxicokinetics of <sup>14</sup>C-endossulfam in male Sprague-Dawley rats following oral administration of single or repeated doses. **Environ Toxicol**, v. 20, n. 5, p. 533-541, 2005.

CHEMICAL SAFETY INFORMATION FROM INTERGOVERNMENTAL ORGANIZATIONS (INCHEM). [**Polychlorinated Dibenzo-para-dioxins and Dibenzofurans**]. 2008. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc88.htm>>. Acesso em 27 jan. 2009.

CHUGH *et al.* Endossulfam poisoning in Northern India: a report of 18 cases. **Int J Clin Pharmacol Ther**, v. 36, n. 9, p. 474-477, 1998.

- COHEN, B. I. GABA-transaminase, the liver, and infantile autism. **Med Hypotheses**, v. 57, n. 6, p. 673-674, 2001.
- CISCATO, C.H.P.; GEBARA, A.B.; SPINOSA, H.S. Pesticide residue in cow milk consumed in São Paulo city (Brazil). **Journal of Environmental Science and Health** v. 37, n. 4, p. 323-330, 2002.
- DALSENTER, P. R. *et al.* Reproductive effects of endossulfam on male offspring of rats exposed during pregnancy and lactation. **Hum Exp Toxicol**, v. 18, n. 9, p. 583-589, 1999.
- DEMETER *et al.* Toxicological analysis in a case of endossulfam suicide. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 18, n. 1, p. 110-114, 1977.
- DEWAN, A. *et al.* Repeated episodes of endossulfam poisoning. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 42, n. 4, p. 363-369, 2004.
- DABROWSKI *et al.* Runoff-Related pesticide input into the Lourenses river South Africa. Basic Data for Exposure Assessment and risk mitigation at the Catchment scale. **Water, Air and Soil Pollution** 135:265-283, 2002.
- DhESCA Brasil - Plataforma Brasileira de Direitos Humanos Econômicos, Sociais, Culturais e Ambientais. **Informe 2006**. DHESCA, Rio de Janeiro, 2007. 188p.
- DUARTE, M. A. I. **Poluentes Orgânicos Persistentes**. Monografia (Pós Graduação em Gestão Ambiental). Escola Politécnica da Universidade do Brasil – UFRJ. Santa Catarina, 2002.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Cultura do Algodão no Cerrado. Sistemas de produção. Brasil, jan.2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoCerrado/pragas.htm>>. Acesso em: 20/03/2009.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). [**Reregistration Eligibility Decision for Endossulfam**], nov. 2002. Disponível em: <[http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/endossulfam\\_red.pdf](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/endossulfam_red.pdf)>. Acesso em 03/03/ 2009.
- ENVIRONMENTAL RISK MANAGEMENT AUTHORITY. **Endossulfam Evaluation Sheet**. Nova Zelândia, fev. 2007. Disponível em: <<http://www.ermanz.govt.nz/consultations/ceir/m.pdf>>. Acesso em: 22/03/2009.
- EXTENSION TOXICOLOGY NETWORK (EXTOXNET). [**Pesticides Information Profiles - Endossulfam**]. Atualizado em: jun. 1996. Disponível em: <<http://extoxnet.orst.edu/pips/endosulf.htm>>. Acesso em: 21/01/2009.
- EYER, F. *et al.* Acute endossulfam poisoning with cerebral edema and cardiac failure. **Clinical Toxicology**, v. 42, n. 6, p. 927-932, 2004.
- EURO-LEX. **Comunicação da Comissão ao Conselho, ao Parlamento Europeu e ao Comité Económico e Social Europeu sobre a aplicação prática da estratégia comunitária em matéria de dioxinas, furanos e policlorobifenilos (COM(2001) 593) – Segundo relatório intercalar {SEC(2007) 955}/COM/2007/0396 final**. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2007:0396:fin:pt:html>>. Acesso em: 20/03/2009.
- FARIA, N. M. X.; FASSA, A. C. G.; FACCHINI, L. A. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, 2007.
- FERNANDEZ, M. F. *et al.* Human Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals and Prenatal Risk Factors for Cryptorchidism and Hypospadias: A Nested Case-Control Study. **Environ Health Perspect**, v. 115, supl. 1, p. 8-14, 2007.

FERREIRA, C. R. R. P. T.; VEGRO, C. L. R.; CAMARGO, M. L. B. Defensivos Agrícolas: rumo a uma retomada sustentável. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v. 3, n. 2, 2008.

FLORES, A. V. *et al.* Organoclorados: Um problema de saúde pública. **Ambiente e Sociedade**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 111-124, jul./dez. 2004.

FOSTER, W. G.; AGARWAL, S. K. Environmental contaminants and dietary factors in endometriosis. **Ann NY Acad Sci**, v. 955, n. 1, p. 213-29, 2002.

FOX, S. I. Reproduction. In: **Human Physiology**. Dubuque: Wm. C. Brown Publishers, 1996. p. 608-658.

FRANCO, R. *et al.* Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à Trois. **Mutation Research**, v. 674, p. 03-22, 2009.

GARCIA, E. G. **Segurança e saúde no trabalho rural com agrotóxicos: contribuição para uma abordagem mais abrangente**. 1996. Dissertação (Mestrado ). Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GARCIA-RODRIGUEZ, J. *et al.* Exposure to pesticides and cryptorchidism: geographical evidence of a possible association. **Environ Health Perspect**, v. 104, p. 1090-1095, 1996.

GERMAN FEDERAL ENVIRONMENT AGENCY. [**Endossulfam: Draft Dossier prepared in support of a proposal of endossulfam to be considered as a candidate for inclusion in the Annexes to the Stockholm Convention**]. Alemanha, 2007. Disponível em: <[http://www.POP.int/documents/meetings/poprc/docs/under\\_review/endossulfam/Draft%20Dossier\\_endossulfam.pdf](http://www.POP.int/documents/meetings/poprc/docs/under_review/endossulfam/Draft%20Dossier_endossulfam.pdf)>. Acesso em 03/03/2009.

GILBERT, M. E. Proconvulsant activity of endossulfam in Amygdala kingling. **Neurotoxicol Teratol**, v. 14, p. 143-149, 1992.

GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. apud REIS, A. L. M. **Revisão sobre a toxicidade e aspectos regulatórios do endossulfam**. Monografia (Especialização em Toxicologia). Faculdade de Farmácia – UFG. Goiânia, 2008.

GONZÁLES, F. H. D. **Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária**. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2002.

GORDON J. Neuro-immuno-endocrine considerations for cancer development and therapeutics. **Seminars in Cancer Biology**. v.18, n.8, p. 149. 2008.

GUPTA, P. K. Distribution of endossulfam in plasma and brain after repeated oral administration to rats. **Toxicology**, v. 9, n. 4, p. 371-377, 1978.

GUPTA, P. K. Endossulfam-Induced Neurotoxicity in Rats and Mice. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 15, n. 6, 1976.

GUPTA, P. K.; GUPTA, R. C. Pharmacology, Toxicology and Degradation of Endossulfam A Review. **Elsevier/North-Holland Scientific Publishers Ltd.**, India, v. 13, n. 2, p. 115-130, 1979.

HACK, R. *et al.* Chronic toxicity and carcinogenicity studies with the insecticide endossulfam in rats and mice. **Food Chem Toxicol**, v. 33, p. 941-50.1995

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1998.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK (HSDB). [**Endossulfam**], 2005. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~7PjN6g:1>>.

Acesso em: 20/03/2009.

HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK. [Endossulfam], 2005. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~7PjN6g:1>>. Acesso em: 20 mar. 2009.

HINCAL, F.; GURBAY, A.; GIRAY, B. Induction of lipid peroxidation and alteration of glutathione redox status by endossulfam. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 47, p. 321-326, 1995.

HIREMATH, M. B.; KALIWAL, B. B. The anti-implantation action of endossulfam in albino mice: possible mechanisms. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**, v. 13, n. 4, p. 329-40, 2002.

HODGSON, E.; LEVI, P. E. Pesticides: An Important but Underused Model for the Environmental Health Sciences. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, Sup. 1, p. 97-106, march 1996.

HOND, E.; SCHOETERS, G. Endocrine disrupters and human puberty. **International Journal of Andrology**, Belgium, v. 29, p. 264-271, 2006.

INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION (ILO/WHO). [Joint Press Release ILO/WHO: Number of Work related Accidents and Illnesses Continues to Increase - ILO and WHO Join in Call for Prevention Strategies]. Disponível em: <[http://www.ilo.org/global/About\\_the\\_ILO/Media\\_and\\_public\\_information/Press\\_releases/lang--en/WCMS\\_005161/index.htm](http://www.ilo.org/global/About_the_ILO/Media_and_public_information/Press_releases/lang--en/WCMS_005161/index.htm)>. Acesso em: 02/03/2009.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS) Intox Databank. [Endossulfam]. Suíça, jul. 2000. Disponível em: <<http://www.intox.org/databank/documents/chemical/endosulf/pim576.htm>>. Acesso em: 01/03/2009.

JE, K. H. *et al.* TERT mRNA expression is up-regulated in MCF-7 cells and a mouse mammary organ culture (MMOC) system by endossulfam treatment. **Arch Pharm Res**, v. 28, n. 3, p. 351-357, 2005.

JIA, Z.; MISRA, H. P. Developmental exposure to pesticides zineb and/or endossulfam renders the nigrostriatal dopamine system more susceptible to these environmental chemicals later in life. **NeuroToxicology**, v. 28, p. 727-735, abril 2007.

KANAN, K. Evidence for induction of apoptosis by endossulfam in a human T-cell leukemic line. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 205, p. 53-66, 2000.

KANG, K. S.; PARK, J. E.; RYU, D. Y.; LEE, Y. S. Effects and neuro-toxic mechanisms of 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl and endossulfam in neuronal stem cells. **The Journal of veterinary medical science/The Japanese Society of Veterinary Science**, v. 63, n. 11, p. 1183-1190, 2001.

KANNAN, K. *et al.* Evidence for the induction of apoptosis by endossulfam in a human T-cell leukemic line, **Mol Cell Biochem**, v. 205, p. 53-66, 2000.

KANTHASAMY, A.G. *et al.* Dieldrin-Induced Neurotoxicity: Relevance to Parkinson's **Disease Pathogenesis NeuroToxicology**, v. 26, p. 701-719, 2005.

KARATAS, A. D.; AYGUN, D.; BAYDIN, A. Characteristics of endossulfam poisoning: a study of 23 cases. **Singapore Med J**; v. 47, p. 1030-1032, 2006.

KEENAN, J. J. **Immunotoxic Effects of Mixtures of Endossulfam and Permethrin Via Caspase Dependent Thymocyte Apoptosis.** 2003. Dissertação (Mestre em Ciências - Medicina Veterinária) - Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University in Partial Fulfillment, Blacksburg, Virginia, 2003.

KLAASSEN, C. D. **Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons.** 6. ed. Columbus: McGraw-Hill Professional, 2001.

- KUCUKER, H.; SAHIN, O.; YAVUZ, Y. YÜRÜMEZ, Y. Fatal acute endossulfam toxicity: a case report. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 104, p. 49-51, 2009.
- KUMAR, Sanjay. Pesticide ban imposed reports of congenital abnormalities. *British Medical Journal*, vol. 325(7360), p. 356, august 2002.
- KUTLUHAN, S.; AKHAN, G.; GULTEKIN, F.; KURDOGLU, E. Three cases of recurrent epileptic seizures caused by Endossulfam. **Neurol India**, v. 51, p. 102-103, 2003. Disponível em: <<http://www.neurologyindia.com/text.asp?2003/51/1/102/1050>>. Acesso em 22/03/2009.
- LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. São Paulo: Manole, 1999.
- LE COUTEUR, D. G. *et al.* Pesticides and Parkinson's disease. **Biomed & Pharmacother**, v. 53, p. 122-30, 1999.
- LI, J. *et al.* Organochlorine pesticides in the atmosphere of Guanzhou and Hon Kong: regional sources and long-range atmosferic transport. **Atmos. Environ**, v. 41, p. 3889-3903, 2007.
- LI, X.; ZHANG, S.; SAFE, S. Activation of kinase pathways in MCF-7. cells by 17 $\beta$ -estradiol and structurally diverse estrogenic compounds. **J. Steroid Biochem Mol Biol**, v. 98, n. 2-3, p. 122-32, 2006.
- LO, R.S.; CHAN, J.C.; COCKRAM, C. S., LAI, F. M. Acute tubular necrosis following endosulphan insecticide poisoning. **J Tox Clin Tox**, v. 33, n. 1, p 67-69, 1995.
- LONSWAY, J. A. *et al.* Dermal and Respiratory Exposure of Mixers/ Sprayers to Acephate, Methamidophos, and Ensossulfam During Tobacco Production. **Environm Contam Toxicol**, v. 59, p.179-186, 1997.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Ações de Controle de Pragas do Cacaueiro** [2006-2008]. Disponível em : <<http://apache.camara.gov.br/portal/arquivos/Camara/internet/comissoes/capadr/audiencias-2007/rap090807girabis1mapa.pdf>>. Acesso em: 20/03/2009.
- LU, Y. *et al.* Genotoxic effects of alpha-endossulfam and beta-endossulfam on human HepG2 cells. **Environ Health Perspect**, v. 108, n.6, p. 559-61. 2000
- MENDOZA, O. L. L.; HERNÁNDEZ, M. M. G.; BRITO, D. P.; MARRERO, O. L. Intoxicación aguda masiva por endossulfam inusual emergencia médica **Rev Cub Med Int Emerg**, v. 5, n. 4, p. 554-560, 2006.
- MICROMEDEX appud REIS, , A. L. M. Revisão sobre a toxicidade e aspectos regulatórios do endossulfam. Monografia (Especialização em Toxicologia). Faculdade de Farmácia – UFG. Goiânia, 2008.
- MIRANDA, A.L.C. **Bioacumulação de Poluentes Organopersistentes (POP) em Traíra (*Hoplias malabaricus*) e seus efeitos *in vitro* em células do sistema imune de Carpa (*Cyprinus carpio*)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- MOREIRA, J. C. *et al.* Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciênc. saúde coletiva**, v.7, n. 2, p. 299-311, 2002.
- NAQVI, S. M., VAISHNAVI, C. Bioaccumulative potential and toxicity of endossulfam insecticide to non-target animals. **Comp Biochem Physiol**, Great Britain, v. 105-C, n. 3, p. 347-361, 1993.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003.

OKTAY, C., GOKSU, E., BOZDEMIR, N., SOYUNCU, S., Unintentional toxicity due to endossulfam: a case report of two patients and characteristics of endossulfam toxicity. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, n. 6, p. 318-320, 2003.

PAT, C.; LUSCOMBE, D.; SIMPSON, M. Critérios Técnicos para a Destruição de Estoques de Poluentes Orgânicos Persistentes. Greenpeace. Brasil, 1998.

PATHAK, R. *et al.* Endossulfam and other organochlorine pesticide residues in maternal and cord blood in North Indian population. **Bull Environ Contam Toxicol**, v.81, n. 2, p. 216-219, 2008.

PAUL, V.; BALASUBRAMANIAM, E.; JAYAKUMAR, A. R.; KAZI, M. A sex-related difference in the neurobehavioral and hepatic effects following chronic endossulfam treatment in rats. **Eur J Pharmacol**, v. 293, n. 4, p. 355-60, 1995.

PRIOR INFORMED CONSENT PROCEDURE (PIC). Rationales, draft decisions and work-plans for chemicals for which two notifications met the criteria of Annex II. Disponível em: <<http://www.pic.int/chemicals/Inf-Exchange/endossulfam.doc>>. Acesso em 20/03/09.

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. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 12, n. 1, p. 105-114, 2007.

PISTL, J. *et al.* Determination of Immunotoxic potential of pesticides on functional activity of sheep leukocytes in vitro. **Toxicology**, v. 188, p. 73-81, 2003.

PRADHAN, S. *et al.* Selective involvement of basal ganglia and occipital cortex in a patient with acute endossulfam poisoning. **J Neurol Sci**, v. 147, p. 209-213, 1997.

RAASKARIMI A. Suicide with endossulfam: a case report. **Shiraz E-Med J**, v. 2, n. 1, 2001.

RAMASWAMY, S.; PURI, G. D.; RAJEEV, S. Endossulfam poisoning with intravascular hemolysis. **J Emerg Med**, v. 34, n. 3, p. 295-297, 2008.

RANGANATHAN, D. *et al.* Design, Synthesis, and Characterization of Tyrosinophanes, a Novel Family of Aromatic-Bridged Tyrosine-Based Cyclodepsipeptides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 64, p. 3620- 3629, 1999.

REIS, A. L. M. Revisão sobre a toxicidade e aspectos regulatórios do endossulfam. Monografia (Especialização em Toxicologia). Faculdade de Farmácia – UFG. Goiânia, 2008.

ROBERTS, D. M.; DISSANAYAKE, W.; REZVI SHERIFF, M. H.; EDDLESTON, M. Refractory status epilepticus following self-poisoning with the organochlorine pesticide endossulfam. **J Clin Neurosci**, v. 11, n. 7, p. 760-762, 2004.

ROBERTS, D. M. *et al.* Influence of Pesticide Regulation on Acute Poisoning Deaths in Sri Lanka. **Bull World Health Organ.**, Sri Lanka, v. 81, n. 11, p. 789-798, 2006.

ROBERTS, E. M. *et al.* Maternal residence near agricultural pesticide applications and autism spectrum disorders among children in the California Central Valley. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 10, 2007.

ROLDAN-TAPIA, L. *et al.* Neuropsychological sequelae from acute poisoning and long-term exposure to carbamate and organophosphate pesticides. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 28, p. 694-703, 2006.

- SAIYED, H. *et al.* Effect of Endossulfam on Male Reproductive Development. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 16, p. 1958-1962, 2003.
- SANCEWICZ-PACH, K. *et al.* Acute pesticides poisonings in pregnant women. **Przeegl Lek**, v. 54, n. 10, p. 741-744, 1997.
- SCHMIDT, M. L. G., GODINHO, P. H. Um breve estudo acerca do cotidiano do trabalho de produtores rurais: intoxicações por agrotóxicos e subnotificação. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, São Paulo v. 31, n. 113, p. 27-40, 2006.
- SHARPE, R. M. Endocrinology and paracrinology of the testis. In: LAMB, J. C.; FOSTER, P. M. D. **Physiology and toxicology of male reproduction**. San Diego: Academic Press, 1988. p. 71-102.
- SHEMESH, Y.; BOURVINE, A.; GOLD, D.; BRACHA, P. Survival after acute endossulfam intoxication. **J Tox Clin Tox**, v. 26, n. 3-4, p. 265-268, 1988.
- SINGH, N. D. *et al.* Citrinin and endossulfam induced teratogenic effects in Wistar rats. **J Appl Toxicol**, v. 27, n. 2, p. 143-151, 2007a.
- SINGH, KP; MALIK, A.; SINHA, S. Persistent organochlorine pesticide in soil and surface water of norther Ido-Gangetic alluvial plains. *Environ Monit Assess* (2007) 125:147-155.
- SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS (AGROFIT). Brasília, DF, 2003. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 19/03/2009.
- SOTO, A. M., CHUNG, K. L.; SONNENSCHNEIN, C. The Pesticides Endossulfam, Toxaphene, and Dieldrin Have Estrogenic Effects on Human Estrogen-Sensitive Cells. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n. 4, p. 380-383, april 1994.
- SOTO, A. M., CHUNG, K. L.; SONNENSCHNEIN, C. The Pesticides Endossulfam, Toxaphene, and Dieldrin Have Estrogenic Effects on Human Estrogen-Sensitive Cells. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n. 4, p. 380-383, april 1994.
- SUÑOL, C. *et al.* Studies with neuronal cells: From basic studies of mechanisms of neurotoxicity to the prediction of chemical toxicity. **Toxicology in Vitro**, v. 22, p. 1350-1355, 2008.
- SUTHERLAND, T. *et al.* Toxicity and residues of endossulfam isomers. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, New York, v. 183, p. 99-113, 2004.
- TIBERIN, *et al.* EEG findings in poisoning by endossulfam. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol**, v. 28, p. 642, 1970.
- TIETZ, W. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo 1999, p. 803-804.
- TONGEREN, M. V. *et al.* A job-exposure matrix for potential endocrine-disrupting chemicals developed for a study into the association between maternal occupational exposure and hypospadias. **Ann Occup Hyg**, v. 46, n. 5, p. 465-477, 2002.
- TORRES, M. J. *et al.* Organochlorine pesticides in serum and adipose tissue of pregnant women in Southern Spain giving birth by cesarean section. **Sci Total Environ**, v. 372, n. 1, p. 32-38, 2006.
- UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (UNEP/FAO). **Inclusion of the chemical endossulfam in Annex III of the Rotterdam Convention**. 2007. Disponível em: <[http://www.pic.int/COPS/COP4/i9\)/English/K0763331%20COP-4-9.pdf](http://www.pic.int/COPS/COP4/i9)/English/K0763331%20COP-4-9.pdf)>. Acesso em: 10/03/2009.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (UNEP/FAO). **Endossulfam**. Documentation received from the European Commission to support its notification of final regulatory action on endossulfam. 2006. Disponível em: <<http://www.pic.int/incs/crc3/j10-add1/English/K0654655%20CRC3-10-ADD-1%20final.pdf>>. Acesso em: 12/03/2009. v. 30, n. 4, p. 575-583, 1992.

VALE, C., *et al.* The organochlorine pesticides  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane (lindane) and the cyclodienes  $\alpha$ -endossulfam and dieldrin differentially interact with GABA(A) and glycine-gated chloride channels in primary cultures of cerebellar granule cells. **Neuroscience**, v. 117, p. 397-402, 2003.

VAN DER HOEK, W.; KONRADSEN, F. Risk factors for acute pesticide poisoning in Sri Lanka. **Trop Med Int Health**, v. 10, n. 6, p. 589-596, 2005.

VEIGA, M.M., DUARTE, F.J.C.M., MEIRELLES, L.A., GARRIGOU, A., BALDI, I. A contaminação por agrotóxicos e os equipamentos de proteção individual (EPIs). **Ver Bras Saúde Ocup.** São Paulo 2007; 32(116):57-68.

VENKATESWARLU, K. , *et al.* Endossulfam poisoning - a clinical profile. **J Assoc Physicians India**, v. 48, p. 323-325, 2000.

VILLA,S.; NEGRELLI, C.; FIDIZIO, A.; FLORA, O.; VIGHI, M. Organochlorine counpounds in ice melt water from Italian Alpine rivers. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 63 (2006) 84-90.

WEIGENT, D<sup>a</sup> Blalock JE. Associations between the neuroendocrine and immune systems. **J Leukoc Biol.** v.58, n. 2, p.137-50, 1995

WICKRAMASINGHE, K. *et al.* Cost to government health-care services of treating acute self-poisonings in a rural district in Sri Lanka. **Bull World Health Organ**, v. 87, p. 180-185, 2009.

YAVUZ, Y. *et al.* Two cases of acute endossulfam toxicity. **Clinical Toxicology**, v. 45, n. 5, p. 530-532, 2007.

YAVUZ, Y. *et al.* Two cases of acute endossulfam toxicity. **Clinical Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 575-583, 1992.

YEHOUENOU *et al.* Contamination of fish by organochlorine pesticide residues in the Oúémé River catchment in the republic of Bénin. **Environment International** 32(2006) 594-5999.

ZAIDI, N. F.; AGRAWAL, A. K.; ANAND, M.; SETH, P. K. Neonatal endossulfam neurotoxicity: behavioral and biochemical changes in rat pups. **Neurobehav Toxicol Teratol**, v. 7, n. 5, p. 439-42, 1985.