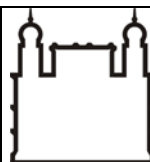




Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
Gerência Geral de Toxicologia



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## NOTA TÉCNICA REAValiação TOXICOLÓGICA DO INGREDIENTE ATIVO DA PARATIONA METÍLICA

<b>1. APRESENTAÇÃO E MOTIVAÇÕES PARA A REAValiaÇÃO .....</b>	<b>2</b>
<b>2. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>3</b>
2.1. IDENTIDADE QUÍMICA E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DA PARATIONA METÍLICA .....	4
2.2. PRODUÇÃO E USO .....	5
2.3. RELEVÂNCIA PARA A SAÚDE PÚBLICA .....	7
<b>3. TOXICOCINÉTICA .....</b>	<b>11</b>
3.1. VIAS DE EXPOSIÇÃO E ABSORÇÃO .....	11
3.2. DISTRIBUIÇÃO .....	11
3.3. BIOTRANSFORMAÇÃO .....	12
3.4. ELIMINAÇÃO .....	13
<b>4. AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA .....</b>	<b>13</b>
4.1. ASPECTOS GERAIS DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS EM SERES HUMANOS .....	13
4.2. TOXICIDADE AGUDA .....	16
4.3. TOXICIDADE SUBCRÔNICA .....	19
4.4. TOXICIDADE CRÔNICA E CARCINOGENICIDADE .....	26
4.5. TOXICIDADE SOBRE O SISTEMA ENDÓCRINO, REPRODUTIVO E DESENVOLVIMENTO. ....	35
4.6. IMUNOTOXICIDADE .....	44
4.7. NEUROTOXICIDADE .....	47
<b>5. ASPECTOS REGULATÓRIOS – A SITUAÇÃO INTERNACIONAL DO REGISTRO DA PARATIONA METÍLICA .....</b>	<b>59</b>
<b>6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>59</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>67</b>

## 1. Apresentação e motivações para a 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 pelos especialistas da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ.

A partir da data de sua publicação, a mesma ficará em Consulta Pública por 60 dias, conforme disposto na RDC nº 48/2008, e as contribuições, após consolidadas, 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, para a qualidade de vida e para meio ambiente, são incumbências do Poder Público, atribuídas pelo artigo 225 da Constituição Federal, e 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 para os trabalhadores expostos a essas substâncias, quanto para os consumidores de culturas tratadas e para a 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. Dessa forma os agrotóxicos, para a obtenção do registro, são avaliados quanto aos impactos à saúde humana, ao meio ambiente e de eficácia agronômica.

A ANVISA é o órgão responsável no âmbito do Ministério da Saúde pela avaliação da 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 internacionalmente, em particular pela ONU/OMS – Organização Mundial de Saúde, OECD – Organization for Economic Cooperation 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, a Lei nº 7.802/89 e o Decreto nº 4.074/02 prevêm a reavaliação toxicológica.

Em relação aos aspectos toxicológicos, 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 as situações não evidenciadas nos estudos experimentais conduzidos em animais de laboratório, entre outras possibilidades.

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

## 2. Introdução

Em razão de a parationa metílica pertencer ao grupo químico dos organofosforados - OP, assim como diversos outros compostos inseticidas tais como: parationa etílica, metamidofós, fosmete, forato, triclorfom, abamectina, thiram, malationa, clorpirifós e acefato, todos potentes inibidores irreversíveis da acetilcolinesterase, provocando efeitos tóxicos sobre o sistema nervoso e afetando diversos outros sistemas de organismos expostos (EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005), será feita inicialmente a caracterização geral desse grupo químico.

Entre os agrotóxicos de grande importancia para a saúde pública estão os organofosforados. Trata-se de um grupo de compostos que, por sua toxicidade tem sido usado historicamente como inseticida bem como agente químico de guerra.

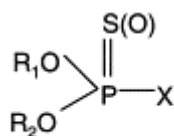
Os primeiros compostos organofosforados foram preparados por alquimistas na Idade Média, mas seu estudo sistemático teve início no século XIX, por Lassaigue em 1820, com a esterificação de ácido fosfórico. Vinte e cinco anos mais tarde, uma série de derivados de fosfinas foi preparada por Thinarde e colaboradores e a partir destes trabalhos o progresso da investigação dos compostos de fósforo foi acelerado (SANTOS et al, 2007).

A partir da segunda metade do século XIX, seu desenvolvimento foi dominado por pesquisadores britânicos e alemães (TOY, 1976; STODDART, 1979). A descoberta das propriedades tóxicas e inseticidas de alguns compostos de fósforo por Schrader e colaboradores, em 1930, criou novos compostos organofosforados nas indústrias (STODDART, 1979).

A qualidade inseticida dos organofosforados foi primeiramente observada na Alemanha durante a II Guerra Mundial em um estudo de gases (sarin, soman e tabun) extremamente tóxicos para o sistema nervoso (ROSATI et al, 1995).

Os compostos organofosforados - OP foram introduzidos como biocidas na década de 1970, inicialmente apresentados como substitutivos dos organoclorados mas que se mostraram com maior toxicidade (WOODWELL et al, 1967; PEAKALL et al, 1975; MURPHY, 1986). Foi também a partir dessa época que aumentou de forma drástica o número de casos de intoxicação por OP, mesmo em baixas doses (ARAÚJO et al, 2007).

Os OP são ésteres fosfóricos compostos por um átomo de fósforo pentavalente, derivado do ácido fosfórico, do ácido tiosfosfórico ou do ácido ditiosfosfórico (BRASIL, 1997). Sua estrutura química pode ser representada pela figura 1.



**Figura 1.** Estrutura química geral dos organofosforados (OP)

O átomo de fósforo da molécula do OP é polarizável, usualmente, os radicais R1 e R2 são grupos arilas ou alquilas que são ligados diretamente ao átomo de fósforo, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos e fosforotioatos (HOLLINGWORTH, 1976; COCKER et al, 2002).

O R1 pode estar diretamente ligado ao átomo de fósforo e o R2 pode estar ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfonatos ou tiofosfonatos. Ainda, os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH<sub>2</sub> na molécula. Os grupos amino dos fosforamidatos podem ser não-substituídos, monos ou di-substituídos. Os átomos que podem formar ligação dupla com o fósforo podem ser: oxigênio, enxofre, selênio, cloro, flúor e os cianofosforados, como, sarin, soman e tabun (HOLLINGWORTH, 1976; ECOBICHON, 2001).

Cocker et al (2002) estudaram a importância das características estruturais dos compostos organofosforados e mostrou que estão relacionadas com suas diferentes atividades tóxicas, tais como o tipo de heteroátomo ou grupo funcional ligado ao átomo de fósforo e seu estado de oxidação. Assim, na estrutura geral dos OP a parte X da molécula (ver figura 1) possibilita a sua diferenciação em produtos específicos. Os inseticidas OP são usados frequentemente na forma “thio” (P=S) que por dessulfuração metabólica oxidativa produz a forma P=O.

Foi comprovado que a toxicidade elevada para a espécie humana de diversos organofosforados está relacionada às ligações P=O em sua estrutura molecular ou de seus metabolitos. Esta ligação possibilita maior transferência de elétrons do fósforo para o oxigênio, resultando em cargas mais intensas nos dois elementos e, como consequência, interações mais fortes entre o organofosforado com o centro esterásico da enzima acetilcolinesterase. (COCKER et al, 2002).

### **2.1. Identidade química e propriedades físico-químicas da parationa metílica**

A parationa metílica apresenta as seguintes propriedades físico-químicas (ANVISA, 2002; TOMLIN 1994 apud Da SILVA, 1994; IPCS, 1992).

**Ingrediente ativo ou nome comum:** PARATIONA-METÍLICA (parathion methyl).

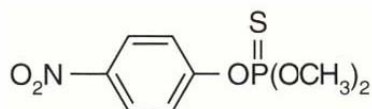
**Sinonímia:** E 601.

**Nº CAS:** 298-00-0.

**Nome químico:** O,O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate.

**Fórmula bruta/ empírica:** C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>5</sub>PS.

**Fórmula estrutural:**



**Figura 2:** Fórmula estrutural da Parationa Metílica

**Grupo químico:** organofosforado.

**Classe:** inseticida e acaricida.

**Classificação toxicológica:** Classe I (extremamente tóxico).  
**Classe Agronômica:** inseticida e acaricida.  
**Peso molecular:** 263,23 g/mol  
**Pressão de vapor:** 0,5 mm Hg at 20 °C.  
**Ponto de ebulição (°C):**143.  
**Coefficiente de partição (log P<sub>ow</sub>):** 1.81-3.43 (média relatada).  
**Solubilidade em água (25 °C):** 55-60 mg/litre.  
**Uso agrícola:** autorizado conforme indicado.  
**IDA:** 0,003 mg/kg/peso corpóreo.  
**Fonte:** ANVISA, 2002; TOMLIN 1994 *apud* DA SILVA, 1994; IPCS, 1992.

Um aspecto importante da parationa metílica (PM) é que durante sua biotransformação é formado o metabolito paraoxona, que aumenta e prolonga os efeitos tóxicos desse princípio ativo (ANVISA, 2002). Segundo a *United Nations Environment Programme* e a *Food and Agriculture Organization* das Nações Unidas (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2005) a rotulagem da PM deve conter no mínimo as seguintes indicações de risco: extremamente tóxico, perigoso para o ambiente, se aquecido pode causar explosão, inflamável, tóxico em contato com a pele, muito tóxico se inalado ou ingerido, perigo de dano grave à saúde pela exposição prolongada, muito tóxico aos organismos aquáticos, pode causar efeitos adversos a longo prazo no ambiente aquático, tóxico para abelhas.

## 2.2 Produção e uso

A utilização dos agrotóxicos no Brasil tem trazido sérias conseqüências, tanto para o meio ambiente como para a saúde do trabalhador rural. Essas conseqüências são, na maioria das vezes, condicionadas por fatores como alta toxicidade dos produtos, precariedade dos mecanismos de vigilância, uso inadequado, falta de utilização de equipamentos de proteção coletiva e individual. Esta situação é agravada pelas precárias condições socioeconômicas e culturais da grande maioria dos trabalhadores rurais amplia a sua vulnerabilidade frente à toxicidade dos agrotóxicos (SOBREIRA; ADISSI, 2003).

O Brasil crescentemente vem ocupando entre os países do mundo um lugar de destaque no consumo de agrotóxicos. Em 2002 era estimado em 2,5 a 3 milhões de toneladas por ano (MOREIRA et al. 2002). No início dos anos 2.000 já era o maior consumidor da América Latina, com consumo estimado em 50% da quantidade comercializada nesta região (MMA, 2003 *apud* MIRANDA et al, 2007). Atualmente ocupa o primeiro lugar em consumo no mundo.

**Modalidade de emprego vigente da parationa metílica (PM):** aplicação foliar nas culturas de algodão, alho, arroz, batata, cebola, feijão, milho, soja e trigo (Tabela 1).

**Tabela 1:** Modalidade de aplicação da parationa metílica nas diversas culturas, limite máximo e resíduo e intervalo de segurança.

Culturas	Modalidade de emprego (aplicação)	LMR (mg/Kg)	Intervalo de segurança
Algodão	foliar	0,3	15 dias

Alho	foliar	0,1	15 dias
Arroz	foliar	0,2	(1)
Batata	foliar	0,1	15 dias
Cebola	foliar	0,1	15 dias
Feijão	foliar	0,05	15 dias
Milho	foliar	0,1	15 dias
Soja	foliar	0,1	15 dias
Trigo	foliar	0,1	15 dias

(1) O LMR refere-se ao arroz proveniente de importação. Intervalo de segurança não determinado por tratar-se de arroz proveniente de importação.

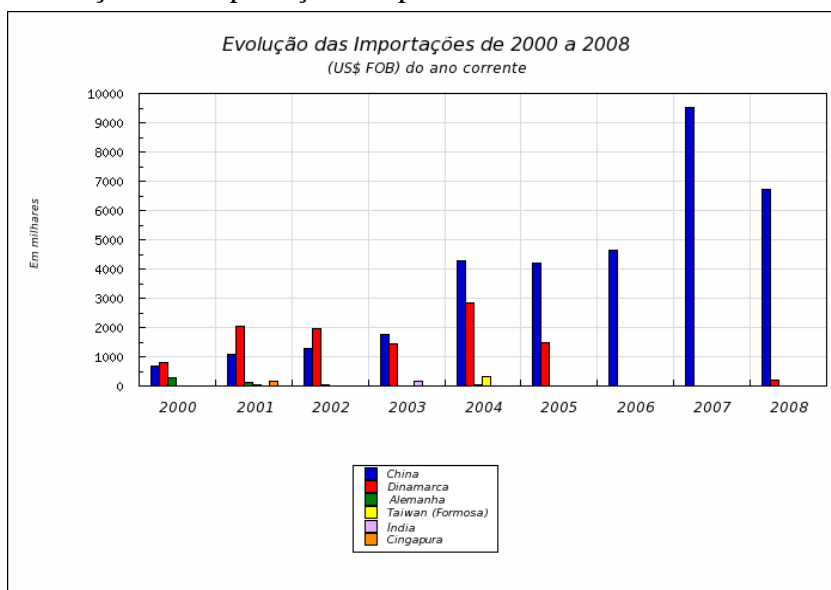
Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002.

Em 2001 foi criada pela ANVISA o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA, com a finalidade de avaliar de forma contínua os níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos *in natura*, identificando os que excedem os limites máximos de resíduos (LMR) autorizados pela legislação (ANVISA, 2009). Os resultados dessas avaliações são divulgados anualmente, sempre referentes às amostras coletadas no ano anterior.

Entre diversos resultados do PARA foi mostrado que, além da utilização de agrotóxicos não autorizados e agrotóxicos com restrições quanto ao modo de aplicação, os mesmos continuam sendo utilizados no campo, pondo em risco a trabalhadores e consumidores. O PARA, em 2008, veio confirmar que o uso de agrotóxicos não autorizados (NA) e, em menor proporção, a presença de resíduos acima do limite máximo (LMR) permitido, continuam frequentes, como foi encontrado em relação a PM em laranja (ANVISA, 2009).

No quadro 1 vemos a evolução das importações da parationa metílica no período de 2000 a 2008 em diversos países do mundo. A China, por exemplo, teve o auge das importações em 2007, ano em que esse país proibiu cinco OP: parationa metílica, metamidofós, parationa etílica, monocrotofós e fosfamidon. (SISCOMEX, 2008)

#### Quadro 1: Evolução das importações da parationa metílica de 2000 a 2008



Fonte: Acriweb acesso ao SISCOMEX em 13 de agosto de 2008

### ***2.3 Relevância para a saúde pública***

Em relação aos agrotóxicos, estima-se que, anualmente, três milhões de pessoas sejam contaminadas por agrotóxicos em todo o mundo, sendo que 70% desses casos ocorrem nos países em desenvolvimento (WHO, 1985; WHO, 1986; OLIVEIRA-SILVA; ALVES; DELLA-ROSA, 2003).

A partir do uso disseminado dos organofosforados, diversos efeitos adversos foram descritos em populações humanas e em outras espécies animais (GALLOWAY; HANDY, 2003). Dentre os efeitos tóxicos associados aos organofosforados encontram-se a neurotoxicidade, a imunotoxicidade, a carcinogenicidade, a desregulação endócrina e as alterações no desenvolvimento.

Algumas condições como idade, gênero, assim como a via e dose de exposição contribuem para uma maior susceptibilidade individual, de maneira que crianças, idosos e mulheres em idade fértil constituem grupos populacionais de especial risco aos agrotóxicos (WOODRUFF et al, 2008).

É válido ressaltar que entre os grupos expostos as crianças parecem ser mais afetadas apresentando alto nível de resíduos de OP quando comparados a adultos (ADGATE et al, 2001 apud WAGNER; MARENGO; PLEWA, 2003).

Regiões onde não existe infra-estrutura suficiente para regular e controlar eficazmente o uso de agrotóxicos, como a América Latina, África e Ásia os problemas decorrentes do uso de agrotóxicos na agricultura é ainda mais grave (NUNES; RIBEIRO, 1999).

GARCIA (2001) em seus estudos encontrou uma relação direta entre as curvas de crescimento dos registros de intoxicações e das vendas de agrotóxicos. Alves Filho (2002) corrobora estes dados de relação entre a quantidade de agrotóxicos utilizada no País, com os valores das vendas dos produtos e os índices de intoxicação nos últimos anos.

Em relação ao contexto de vulnerabilidades quanto à exposição soma-se a grande subnotificação de intoxicações por agrotóxicos no Brasil. Estima-se que para cada caso registrado de intoxicação por agrotóxico ocorrem outros 50 sem notificação, ou com notificação errônea (OPAS / OMS, 1996; SOBREIRA; ADISSI, 2003).

Segundo ainda estimativas da Organização Mundial da Saúde 70% das intoxicações por agrotóxicos ocorridas no mundo são devidas a exposições ocupacionais (OLIVEIRA-SILVA; ALVES; DELLA-ROSA, 2003). Segundo dados do IBGE (2002) das 84.596.294 pessoas, com mais de 10 anos ocupadas no Brasil, 17.733.835 (cerca de 20%) tinham o trabalho agrícola como principal ramo de atividade.

Com relação aos óbitos registrados no SINITOX - Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas, do Ministério da Saúde e da ANVISA, disponibilizado pela Fundação Osvaldo Cruz - FIOCRUZ desde 1996, os três principais agentes são os agrotóxicos de uso agrícola, os raticidas e os medicamentos. O percentual de letalidade por agrotóxicos, no período de 1997 a 2001 foi em torno de 3% (SINITOX, 1997 a 2003).

Com relação aos casos de intoxicação por agrotóxicos atribuídos à circunstância ocupacional, o percentual foi bem maior, em média 28% do total de casos nos anos apresentados (1997-2007), revelando a enorme vulnerabilidade dos trabalhadores. Ver evolução dos dados no período de 1997-2007 na Tabela 2, segundo série histórica do Sinitox obtido pela Internet em 28/05/2007 (SINITOX, 1997-2007).

**Tabela 2:** Distribuição do número de casos de intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no período de 1997-2007, no Brasil, segundo dados do SINITOX (Série 1997-2009)

Ano	Casos de intoxicação humana por agrotóxicos	Casos em circunstâncias ocupacionais
2009	5,204	1.158
2007	6.260	1.514
2006	6.757	1.926
2005	6.870	1.745
2004	6.034	1.763
2003	5.945	1.748
2002	5.591	1.788
2001	5.384	1.378
2000	5.127	1.378
1999	4.674	1.499
1998	5.268	1.663
1997	5.474	1.457

Fonte: Série SINITOX, 1997 -2009 (<http://www.fiocruz.br/sinitox>).

Em levantamento bibliográfico realizado por Faria et al (2007) sobre estudos epidemiológicos de intoxicação por agrotóxicos no Brasil foram destacados diversos problemas contextuais, de vulnerabilidade e de susceptibilidade na atividade de aplicação de agrotóxicos e de modos de aplicação (Tabela 3).

**Tabela 3:** Problemas identificados em revisão de estudos brasileiros.

TIPO DE PROBLEMA	AUTORES
Sujeição a más condições de trabalho	ETGES, 2001
Baixa escolaridade	OLIVEIRA-SILVA, 2001
Aumento do risco por fatores sócio-econômicos	OLIVEIRA-SILVA, 2001
Equipamentos de Proteção Individual – EPI - inadequados, não disponibilizados de EPI ou não uso	MOREIRA, 2002; SOARES, 2003; ARAÚJO et al 2000; CASTRO, 2005; DELGADO, 2004
Exposição de mulheres em idade fértil	MOREIRA, 2002
Exposição em idade precoce	MOREIRA, 2002
Receber orientação só do vendedor	SOARES, 2003
Destino inadequado de embalagens	ARAÚJO et al 2000
Pouca conscientização sobre os riscos dos produtos	CASTRO, 2005
Uso de produtos classe I	DELGADO, 2004
Re-entrada na área pós-aplicação	FARIA, 2004
Aumento da carga de exposição	FARIA, 2004

Fonte: adaptado de Faria et al (2007).

Um estudo realizado por Waichaman (2008) nos municípios de Manaus, Iranduba, Careiro da Várzea e Manacapuru do Estado do Amazonas verificou que os agricultores vêm utilizando intensivamente os agrotóxicos na crescente produção de hortaliças. O estudo concluiu que os agricultores não estavam preparados para o uso adequado desta tecnologia ignorando os riscos dos agrotóxicos para saúde humana e o ambiente. Os agricultores não usam equipamento de proteção individual, porque é caro,



desconfortável e inadequado para o clima quente da região. A falta de treinamento e o escasso conhecimento sobre os perigos dos agrotóxicos contribuem para a manipulação incorreta durante a preparação, aplicação e disposição das embalagens vazias. Nestas condições é alta a exposição dos agricultores, suas famílias, de consumidores e do ambiente de modo geral.

Todas estas situações e questões revelam a complexidade do contexto em que se dá o processo de utilização dos agrotóxicos na atividade agrícola que está presente e se associa à toxicidade dos agrotóxicos.

Estão apresentados abaixo alguns estudos realizados em diversas regiões do Brasil e alguns dos problemas de saúde relacionados com exposição aos agrotóxicos, especialmente em população de trabalhadores rurais, onde se destaca a exposição aos organofosforados.

Um estudo realizado em seis propriedades produtoras de tomate em Camocim de São Félix em Pernambuco (Estado do Nordeste do Brasil), para obtenção de informações sócio - ambientais e de morbidade referida, revelou que 13,2 % (n=159) dos trabalhadores entrevistados informava ter sofrido algum tipo de intoxicação, desses 45 referiram mal-estar durante a aplicação de produtos e 70% das mulheres citaram problemas na gestação acarretando perda do feto e ainda 39,4% fizeram referência a perdido de um filho no primeiro ano de vida (ARAUJO; NOGUEIRA; AUGUSTO, 2000).

Em Minas Gerais entre 1991 e 2001 um estudo realizado por Soares, Almeida e Moro (2003) apontaram o alto risco de agravos à saúde a que estão sujeitos trabalhadores rurais em contato com agrotóxicos estando 50% dos entrevistados (n=1064) moderadamente intoxicados.

Oliveira – Silva, et al (2001) em estudo desenvolvido em Nova Friburgo na cidade do Rio de Janeiro identificou que 10% dos trabalhadores investigados apresentavam sinais e sintomas de intoxicação. Esse mesmo autor estimou o número de intoxicações agudas por agrotóxicos entre trabalhadores agrícolas brasileiros. Seriam esperados 360.000 casos a cada ano somente no meio rural.

No meio urbano do Estado do Rio de Janeiro foram registrados 12,6% de casos fatais de intoxicações pelo Instituto Médico Legal – IML desse entre os anos de 200-2001 com fortes evidências de serem por agrotóxicos (OLIVEIRA-SILVA; ALVES; DELLA-ROSA, 2003).

No Rio Grande do Sul, um estudo de base populacional, descreveu o perfil sócio demográfico e a prevalência de algumas morbidades. Entre os resultados obtidos, em relação ao processo de trabalho, destaca-se que 75% dos trabalhadores utilizavam agrotóxicos sendo que esta utilização foi caracterizada como intensa durante sete meses do ano (em 85% dos estabelecimentos); o tipo de agrotóxico utilizado variou conforme a cultura e 12% dos trabalhadores que utilizavam estes produtos referiram intoxicação em pelo menos uma vez na vida e a prevalência de transtornos psiquiátricos foi de 36% (FARIA et al., 2000). Nas propriedades maiores (de 25 a 100 ha) e onde se utilizavam mais agrotóxicos observou-se um aumento do risco para intoxicações (FARIA et al., 2000). Nesse mesmo Estado, um estudo transversal sobre saúde mental de agricultores da Serra Gaúcha mostrou uma forte associação entre intoxicações por agrotóxicos e o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos menores (FARIA et al, 1999). Na cidade de Venâncio Aires-RS, região produtora de fumo foi estudada a ocorrência de suicídios entre agricultores. Os OP eram os agrotóxicos mais utilizados (FALK, 1996).

Pires, Caldas e Recena (2005) no Mato-Grosso do Sul estudou as intoxicações provocadas por agrotóxicos de uso agrícola na microrregião de Dourados no período de 1992 a 2002. Foi observada a prevalência de intoxicações e de tentativas de suicídio pela

exposição a agrotóxicos, evidenciados pelas correlações encontradas entre prevalência de intoxicações e tentativas de suicídio e intensa atividade agrícola principalmente das culturas de algodão e feijão. Os municípios de Dourados, Fátima do Sul e Vicentina se apresentaram como os mais críticos na microrregião de Dourados do Estado do Mato Grosso. Os inseticidas foram a principal classe de agrotóxicos envolvidos nas ocorrências, principalmente organofosforados e carbamatos, corroborando outros estudos tanto nacional como estrangeiro (SENANAYAKE; PEIRES, 1995; SAADEH et al, 1996; SOTH; HOSOKAWA, 2000; SOARES; ALMEIDA; MORO, 2003).

Como ilustração, cita-se um caso de tentativa de suicídio de uma adolescente de 14 anos de idade por ingestão de parationam metílico é ilustrativo da intoxicação aguda. O severo envenenamento agudo caracterizou-se pelos efeitos muscarínicos, nicotínicos e neurológicos, com 88% da atividade da acetilcolinesterase plasmática diminuída. Uma síndrome extrapiramidal apareceu nove dias após, com distúrbios oculares, movimentos distônicos da garganta e do tronco, hipertonía e tremores musculares (MONTROYA-CABRERA et al, 1999).

Os metabolitos da transformação ou produtos de degradação podem ser ingeridos junto com os alimentos ou com a água. A transformação dos organofosforados que têm ligações tiofosfato (P=S) são oxidadas a ortofosfato (P=O). Sob esta última forma, como vimos, os oorganofosforados são potentes inibidores diretos das acetilcolinesterases (COKER et al, 2002). Assim, para melhor compreensão dos efeitos dos organofosforados sobre os sistemas biológicos é necessário o conhecimento das relações entre o agrotóxico e seus metabolitos ou derivados e os complexos enzimáticos dos seres vivos. Alguns desses metabolitos podem ser mais tóxicos do que o composto original como é o caso da parationa metílica que passa a paraoxona (HASSAL, 1990 apud LIMA et al, 2001).

Para determinar os níveis de resíduos da PM em plantas destinadas à alimentação foram realizadas pesquisas em países diferentes em uma variedade de formulações na Europa para dar suporte ao seu registro (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2005). As experimentações foram conduzidas de acordo com os padrões da França e da Alemanha. Nesse sentido, foi enfatizada a necessidade de se aprofundar os estudos de metabolismo para se poder melhor definir os resíduos de interesse (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2005). Segundo ainda essa referência os resíduos relevantes à segurança do trabalhador não haviam sido ainda devidamente avaliados.

Ao passar pelo fígado os organofosforados sofrem biotransformação, originando diferentes metabolitos, que podem ser mais tóxicos do que o composto original (EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005; LIMA; VEGA, 2005), como é o caso da parationa metílica, devido ao paraoxon. Nos animais, os metabolitos toxicologicamente relevantes da parationa metílica (PM) são: o paraoxon, parationa paraoxon-metílica, p-nitrofenol e seus conjugados que após hidrólise podem formar diversos compostos tais como o fosfato dimetil, o tiofosfato dimetil, o N-acetil-aminofenol. Devido a degradação da PM no ambiente, os seus metabolitos têm grande interesse, especialmente o paraoxon por sua alta toxicidade (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 2005).

### **3. Toxicocinética**

#### **3.1 Vias de exposição e absorção**

A exposição a agrotóxicos organofosforados pode ocorrer através das vias digestiva, respiratória e dérmica. A principal via de exposição à parationa metílica em humanos é a inalatória, porém o contato dérmico e a ingestão acidental ou intencional representam vias de exposição freqüentes e significativas (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; ZHU et al, 2001; GARCIA et al, 2003; INSTITORIS et al, 2004; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

Os agrotóxicos inibidores da colinesterase são bem absorvidos pelas vias digestiva, respiratória e dérmica, em decorrência da alta lipossolubilidade desses compostos (RISHER; MINK; STARA, 1987; FERRER, 2003). A absorção da parationa metílica ocorre através da pele e dos tratos gastrointestinal e respiratório, sendo esse organofosforado quase que completamente absorvido através dessas três vias (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999; ABU-QARE; ABU-DONIA, 2000; ABU-QARE et al, 2000; SVED, 2001; MA et al, 2003; MUTTRAY et al, 2005; MUTTRAY et al, 2006).

Por serem de constituição lipoprotéica, as membranas biológicas são facilmente transpostas por compostos lipossolúveis tais como os organofosforados. A capacidade da parationa metílica de atravessar membranas biológicas deve-se à lipossolubilidade dessa molécula (VILLENEUVE et al., 1972; DRAPER; STREET, 1981; CARVER; RIVIERE, 1989; WESTER et al, 1993; ABU-QARE et al, 2000; MA et al, 2003).

Os organofosforados dessa forma atravessam facilmente a barreira hematoencefálica, provocando manifestações neurológicas (FERRER, 2003) e têm a capacidade de transpor facilmente a placenta (VILLENEUVE et al, 1972; ABU-QARE et al, 2000), atingindo o feto e produzindo efeitos como teratogênese, alterações no neurodesenvolvimento e na maturação neurológica (AHLBOM; FREDRIKSSON; ERIKSSON, 1995; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; COSTA, 2006; JOHNSON et al, 2009).

Diversos fatores podem interferir na absorção dos organofosforados, modificando a toxicocinética e toxicidade desses compostos. A temperatura ambiental elevada e alta umidade relativa aumentam a absorção cutânea, possivelmente em consequência do aumento da taxa de respiração, da frequência e do fluxo sanguíneo para os tecidos. Fatores genéticos ou comportamentais como ingestão de bebidas alcoólicas também modificam a absorção e distribuição desses compostos (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999; ATHANASOPOULOS; KYRIAKIDIS; STAVROPOULOS, 2004).

Alterações fisiológicas e bioquímicas associadas à gravidez também podem resultar em modificações na farmacocinética dos organofosforados. Durante a gravidez ocorre uma redução no metabolismo de diversas enzimas e proteínas relacionadas à degradação dos organofosforados, resultando em aumento da concentração e circulação desses compostos. Esses eventos resultam na inibição exacerbada da acetilcolinesterase, provocando hiperestimulação colinérgica, tanto na mãe quanto no feto (ABU-QARE et al, 2000).

#### **3.2 Distribuição**

Após a absorção, a parationa metílica é amplamente distribuída em tecidos e órgãos, podendo ser primariamente detectada nos sistemas hematopoiético, cardiovascular, reprodutivo e nervoso, atingindo concentrações maiores em fígado e rins (ABU-QARE et al, 2000; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001).

Devido à sua propriedade lipofílica, os organofosforados podem depositar-se no tecido adiposo, sendo liberados gradualmente durante vários dias após a exposição, provocando toxicidade nos diferentes sistemas (KRAMER et al, 2002; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005). Em decorrência da sua acentuada lipofilidade, a parationa metílica também é armazenada no tecido nervoso, provocando neurotoxicidade (GARCIA-REPETTO; MARTINEZ; REPETTO, 1997).

No organismo, esse agrotóxico atravessa a barreira hematoencefálica, provocando alterações no sistema nervoso. Em mulheres grávidas pode transpor facilmente a placenta, atingindo o feto (VILLENEUVE et al, 1972; BANERJEE et al, 1991; CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999; ABU-QARE et al, 2000; FERRER, 2003; GONZÁLEZ-GARCÍA et al, 2008). A parationa metílica também pode ser encontrada no leite materno, com importantes repercussões para a saúde de neonatos e lactentes (SANGHI et al, 2003).

Através da corrente sanguínea o metil paraoxon, metabólito da parationa metílica, é distribuído para órgãos como os pulmões, cérebro e intestino (ABBAS; LICHTMAN, 2008; LESSIRE et al, 1996; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; TANG; CARR; CHAMBERS, 2003; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

### **3.3 Biotransformação**

A parationa metílica é metabolizada majoritariamente no fígado, originando o dimetiltiofosfato (DMTP), o dimetilfosfato (DMP) e o 4-nitrofenol (ABU-QARE et al, 2000; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; EDWARDS, TCHOUNWOU, 2005).

A parationa metílica é metabolizada pelas enzimas de fase I: do citocromo P450, (CHAMBERS; CHAMBERS, 1991; NIELSEN et al, 1991; NORMAN; NEAL, 1976; SULTATOS, 1987) e esterases (ALDRIDGE, 1953); e de fase II: glutationa-S-transferases (HOLLINGWORTH et al, 1973).

#### **a) Reações de fase I do metabolismo da parationa metílica**

Na fase I do metabolismo da parationa metílica ocorrem três reações: (i) dessulfuração pela CYP formando metil paraoxona (NORMAN; NEAL, 1976; NORMAN; VAUGHN; NEAL, 1973; SULTATOS; MURPHY, 1983; NAKATSUGAWA; TOLMAN; DAHM, 1968; POORE; NEAL, 1972; FORSYTH; CHAMBERS, 1989) com o envolvimento da CYP3A4 (BUTLER; MURRAY, 1997) e CYP2B (ALBORES et al, 2001); (ii) arilação pela CYP formando o 4-nitrofenol e o ácido dimetil fosforotióico (NEAL, 1967); (iii) hidrólise pela ação da paraoxonase (TYNDALL; DANIEL, 1975).

#### **b) Reações de fase II do metabolismo da parationa metílica**

As reações de fase II envolvem a conjugação da parationa metílica com a glutationa através da ação das enzimas glutationa-S-aryl transferase e glutationa-S-alquil transferase formando, respectivamente, ácido mercaptúrico 4-nitrofenil (HOLLINGWORTH et al, 1973; HUANG; SULTATOS, 1993; ABEL et al, 2004) e S-

metil glutationa (ABOU-DONIA, 1994; RADULOVIC; KULKARNI, 1987). A parationa metílica também é conjugada com o ácido glucurônico e ácido sulfúrico (NEALE; PARKE, 1973; CHAMBERS; CHAMBERS, 1991).

O metabólito mais tóxico da parationa metílica é o metil paraoxon. Os organofosforados, assim como outras substâncias químicas podem inibir ou induzir a atividade das enzimas de biotransformação. A indução da enzima que forma o metil paraoxon e/ou a inibição da paraoxonase, enzima responsável desintoxicação da parationa metílica, podem aumentar os efeitos tóxicos provocados por esse OP. Durante a gravidez, já foi observada a diminuição da atividade de paraoxonase em mamíferos (TYNDALL; DANIEL, 1975) e um aumento dos níveis de paraoxona metílica em ratos (DE LIMA et al, 1996) destacando a importância da avaliação crítica do risco nessa condição.

### **3.4 Eliminação**

Os metabólitos da parationa metílica são mais polares que os compostos que os originaram, e são eliminados pela urina e, em menor proporção, pelas fezes (EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005). A eliminação dos metabólitos da parationa metílica pelas fezes geralmente representa menos de 10% das doses administradas em estudos experimentais (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999).

Morgan et al (1977) demonstraram em estudo realizado com quatro voluntários que ingeriram de 1-4 mg/kg de parationa metílica que a eliminação desse composto está quase completa 24 horas após a exposição. A excreção do 4-nitrofenol é rápida, estando praticamente completa nas primeiras 08 horas.

O 4-nitrofenol pode ser usado como indicador de exposição aguda à parationa metílica (ABU-QARE et al, 2000; BARR et al, 2002; WESSELS; BARR; MENDOLA, 2003; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

## **4. Avaliação toxicológica**

### **4.1 Aspectos gerais das manifestações clínicas em seres humanos**

Uma vez no organismo, os organofosforados agem inibindo a enzima acetilcolinesterase, provocando uma hiper-estimulação colinérgica pelo acúmulo de acetilcolina nas terminações nervosas (PRUETT et al, 1992; CARVALHO, 1993; BEACH et al, 1996; SHEETS et al, 1997; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; RAY; RICHARDS, 2001; MOSER et al, 2005; COSTA, 2006; KELLAR, 2006; ALON et al, 2007; JAMESON; SEIDLER; SLOTKIN, 2007; NARAVANENI; JAMIL, 2007; SLOTKIN; SEIDLER; FUMAGALLI, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008; LAETZ et al, 2009).

Os distúrbios clínicos da exposição a múltiplos agrotóxicos podem se manifestar por uma grande variedade de sintomas e sinais que dificultam aos profissionais de saúde pouco treinados o diagnóstico, o tratamento e as medidas de prevenção. Para tanto são requeridas capacitação e atenção especial para conduzir o cuidado das pessoas e de grupos humanos em situação de risco de exposição aos agrotóxicos, sejam de forma involuntária (na atividade de trabalho, na vida cotidiana, na ingestão de alimentos ou

água contaminada, por acidentes, poluição do ar) ou voluntária (tentativa de suicídio ou de homicídio).

Em geral os efeitos agudos surgem poucas horas após a exposição (ECOBICHON, 2001). O quadro clínico das intoxicações por organofosforados pode variar quanto à gravidade, rapidez de instalação e/ou duração dos sintomas, na dependência da via de absorção e da magnitude da exposição (ECOBICHON, 2001).

Williams e colaboradores (1959) publicaram sobre o efeito inibidor dos carbamatos e organofosforados, incluindo a parationa metílica sobre a acetilcolinesterase *in vivo*. Passados 50 anos de conhecimento acumulados sobre seus efeitos na saúde humana e em outros animais a exposição ainda ocorre sem que suficientes medidas sanitárias de promoção, proteção e cuidados à saúde sejam adotadas principalmente nos países em desenvolvimento.

A tabela 4 mostra os principais efeitos, da exposição a múltiplos agrotóxicos, por órgão ou sistema no ser humano (KALOYANOVA-SIMEONOVA (1977).

Em relação à toxicidade, a parationa metílica apresenta as características gerais dos organofosforados acima descritas e grandes implicações para a saúde pública e ambiental decorrente de suas características químicas e físico-químicas.

A Organização Mundial de Saúde classifica a parationa metílica (PM) como classe I, agrotóxico “extremamente tóxico” (WHO, 1992).

Os primeiros sintomas, após inalação da PM, são: sangramento do nariz, desconforto no tórax e dificuldade para respirar. O contato com a pele pode causar suor e contração muscular involuntária. Após a exposição por qualquer via, outros efeitos sistêmicos podem começar dentro de poucos minutos, ou ser atrasado por 12h. Os efeitos incluem náuseas, vômitos, diarreia, cólicas abdominais, dor de cabeça, enjoo, visão turva, constrição e dilatação das pupilas e confusão. Em vários casos, o envenenamento pode afetar o SNC, produzindo falta de coordenação, confusão mental, perda dos reflexos, fraqueza, fadiga e paralisia eventual da extremidade do corpo ou músculos respiratórios. Pode ocorrer morte devido à parada respiratória e ou disfunção cardíaca (EXTOXNET, 1994).

A maioria dos efeitos sistêmicos da PM está relacionada com a ação do produto e de seus metabólitos no sistema nervoso ou é decorrente de ação primária (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY DIVISION, 2001; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

Estudos em humanos demonstram que o sistema nervoso é o principal alvo da toxicidade aguda da parationa metílica independentemente da via de exposição (YAMAMOTO et al, 1982; DEAN et al, 1984; GUPTA et al, 1985; YOUSSEF et al, 1987; ROBERTS; SILVEY; BAILEY-Jr, 1988; FAZEKAS apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; INSTITORIS et al, 2004).

Como já foi apresentado a PM e o seu metabólito metil paraoxon são potentes inibidores da atividade da enzima acetilcolinesterase, provocando uma hiperestimulação colinérgica pelo acúmulo de acetilcolina nas terminações nervosas e desta ação decorrem tanto os efeitos agudos como crônicos no sistema nervoso (central, periférico e autônomo) (ABU-QARE et al, 2000; KRAMER; HO, 2002; GARCIA et al, 2003; MA et al, 2003; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

**Tabela 4:** Efeitos observados em diversos órgãos ou sistemas decorrente da exposição à múltiplos agrotóxicos.

---

<b>ÓRGÃO/SISTEMA</b>	<b>EFEITO</b>
<b>Sistema nervoso</b>	Síndrome Asteno-vegetativa Polineurite vegetativa radiculite Encefalopatias Disencefalite Distonia vascular vegetativa Esclerose cerebral Neurite retrobulbar c/ acuidade visual Angiopatia da retina
<b>Sistema respiratório</b>	Traqueíte crônica Pneumofibrose inicial Enfisema pulmonar Asma brônquica
<b>Sistema cardiovascular</b>	Miocardite tóxica crônica Insuficiência coronária crônica Hipertensão Hipotensão
<b>Fígado</b>	Hepatite crônica Colecistite Prejuízo desintoxicação e outras funções
<b>Rins</b>	Albuminúria Nicturia Uréia, Nitrogênio e Creatinina Clearance
<b>Trato gastrintestinal</b>	Gastrite crônica Duodenite Úlcera Colite crônica (hemorrágica, espástica e formações polipóides) Hipersecreção e Hiperacidez Prejuízo motricidade
<b>Sistema hematopoiético</b>	Leucopenia Reticulócitos e Linfócitos Eosinopenia Monocitose Alterações na hemoglobina
<b>Pele</b>	Dermatites Eczema
<b>Olhos</b>	Conjuntivite Blefarite

Fonte: Kaloyanova-Simeonova (1977).

Os estudos com voluntários humanos encontraram um NOAEL de 1 a 22 mg/pessoa/dia. Em um estudo de 4 semanas com 22, 24, 26, 28 ou 30 mg/ pessoa/dia, foi observado inibição leve da acetilcolinesterase em alguns indivíduos (grupos de 24,

26 e 28). No grupo de 30 mg/pessoa/dia a atividade da acetilcolinesterase eritrocitária foi comprometida em 37% (GALLO; LAWRYK, 1991 apud EXTOUNET, 1996).

Os distúrbios neurocomportamentais são os mais frequentes em indivíduos cronicamente intoxicados. Os sintomais, os sinais de tipo neuro-comportamental, em geral, são os mais comuns tais como: insônia, sonambulismo, sono excessivo, ansiedade, retardo de reações, dificuldade de concentração e uma variedade de seqüelas neuropsiquiátricas, labilidade emocional, distúrbios de linguagem, particularmente apatia, irritabilidade, alucinações, delírios, tremores, reações esquizofrênicas, alterações no eletro encéfalo grama - EEG, neuropatia periférica, parestesias, hiporreflexia, deficiência na coordenação neuro-motora depressão (ALMEIDA; SOARES, 1992; KLAASSEN, 1991; ECOBICHON, 2001; BRASIL,1997). Muitos desses sintomas muitas vezes deixam de ser relacionados com a exposição aos agrotóxicos e são confundidos com agravos à saúde de outra origem.

Trabalhadores expostos a PM, repetidamente, apresentam dificuldade de atenção e de memória, desorientação, depressão severa, irritabilidade, confusão, dor de cabeça, dificuldade na fala, tempo de reação atrasado, pesadelos e insônia (EXTOUNET, 1994).

Além da inibição da enzima acetilcolinesterase, a parationa metílica pode alterar a conformação da calmodulina, inibindo sua atividade. A calmodulina é uma proteína ativadora cálcio-dependente, presente majoritariamente no cérebro, que regula diversos processos dependentes do cálcio. Alterações na conformação desta proteína contribuem para a neurotoxicidade da PM (PALA et al, 1991; NAYEEMUNNISA; BEGUM, 1992).

#### **4.2 Toxicidade aguda**

Os efeitos associados com a exposição aguda à parationa metílica são similares àqueles associados com a exposição a outros inseticidas organofosforados (US-PHS, 1995 apud EXTOUNET, 1996).

A toxicidade aguda da PM foi avaliada com base nos dados disponíveis em relatórios de agências ou institutos internacionais, tais como o EPA (*Environmental Protection Agency*), o IPCS (*International Programme on Chemical Safety*), pela FAO, de revisão da literatura bem como nos estudos encaminhados à ANVISA com o intuito de suportar o registro dos produtos técnicos e formulados à base de parationa metílica.

Estudos *in vitro* também guardam mais de 50 anos de demonstrações dos efeitos neurotóxicos dos agrotóxicos inibidores da acetilcolinesterase em cérebro de animais de experimentação, corroborando com os estudos *in vivo* (DAVISON, 1955 apud FAO, 1968).

Conforme Kamanyire e Karalliedde (2004) embora a inibição da acetilcolinesterase seja a principal atividade na toxicologia dos organofosforados, a susceptibilidade individual, a inibição de outros sistemas enzimáticos e os efeitos diretos dos OP nos tecidos também é importante. Já se tem conhecimento do comprometimento de carboxiesterases tissulares no soro, fígado, intestino e outros tecidos em expostos aos organofosforados. As carboxiesterases parecem contribuir para a degradação metabólica dos OP e a inibição dessas enzimas contribui para potencializar a toxicidade dos OPs. Esses autores citam alguns efeitos já evidenciados em animais e que também podem ser observados em humanos:

- Inativação por fosforilação de outra beta esterase;
- Alteração da recomposição de neurotransmissores, como por exemplo o GABA e glutamato;



- Aumento do número de receptores GABA e dopaminérgicos;
- Atuação como agonista dos receptores muscarínicos M2/M4;
- Inibição de enzimas mitocondriais e da geração de ATP;
- Indução a degranulação celular, provavelmente causando a liberação de histamina e compostos histamínicos;
- Inibição de óxido nítrico;
- Interferência com o surfactante nos pulmões;
- Inibição da fosfolipase A2;
- Interferência na imunidade celular e humoral, por exemplo, na função dos linfócitos T.

Os sinais e sintomas das intoxicações agudas por organofosforados variam em relação ao tipo de ação e ao órgão alvo.

No Sistema Nervoso Autônomo (efeitos muscarínicos) os efeitos ocorrem no aparelho digestivo, com o seguinte quadro clínico (perda de apetite, náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, defecação involuntária); no aparelho respiratório (rinorréia, hiperemia de vias aéreas superiores, broncoespasmo e aumento da secreção brônquica, edema pulmonar; entre outros); no sistema circulatório (bradicardia, bloqueio aurículo-ventricular); no sistema ocular (lacrimejamento, dor ocular, congestão da conjuntiva, visão prejudicada, espasmo ciliar, dor no supercílio e pupilas puntiformes sem reação). No aparelho urinário (diurese freqüente e involuntária); nas glândulas exócrinas (transpiração excessiva, salivação extrema). Outras alterações: micção involuntárias, sudorese, ereção peniana, bradicardia e hipotensão (ECOBICHON, 2001).

Na síndrome nicotínica, o quadro clínico se constitui geralmente pela presença de fadiga e fraqueza generalizada, câibras, contrações involuntárias, fasciculações disseminadas e paralisia muscular, incluindo os músculos respiratórios, e hipertensão arterial transitória (ECOBICHON, 2001).

A ação no Sistema Nervoso Central (SNC) pela neurotoxicidade leva aos sintomas de distúrbios no sono, dificuldade de concentração, comprometimento da memória, ansiedade, agitação, tremores, disartria, confusão, ataxia, fala indistinta, perda dos reflexos, convulsões generalizadas, torpor, depressão respiratória, paralisia respiratória central com respiração de Cheyne-Stokes e coma. Observa-se também ação vasomotora em outros centros cardiovasculares e no bulbo que provocam hipotensão, podendo evoluir para coma e morte (KLAASSEN, 1991; ECOBICHON, 2001; BRASIL, 1997).

O quadro clínico das intoxicações por organofosforados pode variar quanto à gravidade, rapidez de instalação e/ou duração dos sintomas, na dependência da via de absorção e da magnitude da exposição (KAMANYIRE; KARALLIEDDE, 2004).

A inibição das enzimas provoca o acúmulo de acetilcolina nas fendas sinápticas e o organismo passa a apresentar uma série de alterações clínicas (OLIVEIRA-SILVA et al. 2001).

A síndrome colinérgica se caracteriza por efeitos oculares (miose, dor ocular, congestão da conjuntiva, visão prejudicada, espasmo ciliar e dor no supercílio); respiratórios (rinorréia, hiperemias de vias aéreas superiores, broncoespasmo e aumento da secreção brônquica); gastrintestinais (anorexia, náusea, vômito, cólicas abdominais e diarreia). Outros efeitos incluem a salivação extrema, micção e defecação involuntárias, sudorese, lacrimejamento, ereção peniana, bradicardia e hipotensão (ECOBICHON, 1996).

As pessoas com doenças respiratórias, ou com exposição recente a inibidores da acetilcolinesterase, ou com disfunção hepática tem risco aumentado de intoxicação por exposição à parationa metílica (EXTOXNET, 1996).

**Tabela 5:** Estudos de toxicidade aguda do ingrediente ativo parationa metilíca.

Espécie	Linhagem	Via	Pureza (%)	DL50 (mg/kg) ou CL50 (mg/l)	Referência
Rato1	<i>Wistar</i>	Oral	96,1	♂ = 2,9 (2,43 – 3,48) ♀ = 3,2 (2,57 – 4,06)	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato2	<i>Wistar</i>	Oral	96,1	♂ = 10,8 (9,7 – 12) ♀ = 9,3 (7,8 – 11)	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Oral	-	4,5 – 24	EPA (2006)
Rato	Sprague-Dawley (albino)	Oral	78,24	♂ = 5,863 ♀ = 5,264	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	<i>Wistar</i>	Oral	80	<100	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Oral	-	♂ = 2,9 ♀ = 3,2	IPCS (1992)
Rato (♂)	-	Oral	-	14	Wills, 1968
Rato (♀)	-	Oral	-	24	Wills, 1968
Rato	-	Oral	-	17,2	Hagan, 1958
Rato (♀)	-	Oral	-	9,7-14,8	Deichmann et al., 1952
Rato	-	Oral	-	3,5	DuBois and Coon, 1952
Rato (♂)	-	Oral	80	25	Cuthbert & Carr (1986) <i>apud</i> IPCS (1995)
Rato (♀)	-	Oral	80	62	Cuthbert & Carr (1986) <i>apud</i> IPCS (1995)
Camundongo	-	Oral	-	32,1	Ikeda, 1962
Camundongo	-	Oral	-	150	Wills, 1968
Coelho*	New Zealand	Oral	96,1	♂ = 19 (15 – 24) ♀ = 19,4 (16,4 – 23)	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Coelho	-	Oral	-	420 (em óleo)	Wills, 1968
Coelho	-	Oral	-	1,270 (não diluído)	Wills, 1968
Rato	<i>Wistar</i>	Dérmica	96,1	♂ = 46 (36 – 58) ♀ = 44 (34 – 56)	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	<i>Wistar</i>	Dérmica	80	♂ = 487,56 ♀ = 250,67	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Dérmica	-	63	IPCS (1992)
Rato	-	Dérmica	-	6	EPA (2006)
Rato	Sprague-Dawley (albino)	Dérmica	78,24	♂ = 1.100 ♀ = 770	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Dérmica	80	♂ = 483 ♀ = 481	Cuthbert & Carr (1986) <i>apud</i> IPCS (1995)
Rato	TNO/W 74	Inalatória (4h)	96,6	♂ = 185 e ♀ = 170 mg/m <sup>3</sup>	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Inalatória	-	<0,163	EPA (2006)
Rato	Sprague-Dawley (albino)	Inalatória (4h)	78,24	♂ = 0,12 ♀ = 0,15	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	<i>Wistar</i>	Inalatória (4h)	80	♂ e ♀ = 0,34 mg/L ♂ = 0,27 mg/L.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Rato	-	Inalatória	80	0,135	Greenough & McDonald (1986) <i>apud</i> IPCS (1995)

1 - Estudo conduzido com animais “não alimentados”

2 - Estudo conduzido com animais “alimentados”

3 - Limite de confiança = 95%, 6,88 mg/kg (limite superior) e 4,77 mg/kg (limite inferior)

4 - Limite de confiança = 95%, 7,34 mg/kg (limite superior) e 3,95 mg/kg (limite inferior)

Os estudos agudos mostraram a extrema toxicidade que o ingrediente ativo parationa metilíca provocou nos animais experimentais após a exposição através das

vias oral e inalatória. As principais alterações observadas nos estudos de DL<sub>50</sub> oral foram: espasmos, salivação, apatia, postura corcunda, tremores, piloereção, hipoatividade, incoordenação motora, sialorréia, sangramento ocular bilateral, exoftalmia, dispnéia, convulsões, opacidade de córnea, congestão pulmonar, descoloração dos pulmões e intestinos, entre outras.

Nos estudos de DL<sub>50</sub> dérmica, conduzidos em ratos, foram observadas as seguintes alterações: espasmos, respiração e postura anormais, apatia, hipoatividade, tremores, secreção ocular, piloereção, diarreia, redução no consumo de alimentos, incoordenação motora, convulsões, sialorréia, exoftalmia, sangramento ocular bilateral, opacidade de córnea, miose bilateral e dispnéia intensa. Os resultados de necropsia revelaram alterações no tamanho do baço e rins, focos de ulcerações no trato gastrointestinal, congestão e edema pulmonar.

A substância parationa metflica foi considerada pouco irritante para a pele de coelhos. Com relação à irritação ocular, o IA em questão provocou hiperemia e conjuntivite por até 72 horas, assim como moderada irritação por 7 dias.

Ratos expostos pela via inalatória apresentaram secreção ocular e nasal, hipoatividade, tremores, apatia, redução no consumo de alimentos, piloereção, pigmentação na região genital, edema pulmonar, respiração irregular, dispnéia, postura curvada, tremores musculares, convulsões, salivação. A necropsia mostrou descoloração nos pulmões, fígado e trato gastrointestinal. Os testes de sensibilização dérmica foram considerados negativos.

Com base nos estudos de toxicidade aguda, a parationa metflica está classificada como **Classe I – Extremamente Tóxico**.

#### **4.3 Toxicidade subcrônica**

Após exposições aguda ou crônica podem ser desencadeadas três tipos de seqüelas neurológicas: a síndrome intermediária, a polineuropatia retardada e efeitos neurocomportamentais (FALK et al., 1999; RAY, 1998; RAY; RICHARDS, 2001).

A Síndrome Intermediária tem sido descrita como uma complicação tardia de casos de intoxicação aguda (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2001). O sintoma principal é uma paralisia que afeta principalmente músculos flexores do pescoço, músculos proximais dos membros superiores ou inferiores e músculos respiratórios. Acontece também diarreia intensa, com perda severa de potássio, complicando ainda mais o quadro de intoxicação. Esta síndrome apresenta risco de morte, devido à depressão respiratória associada (JAYAWARDANE et al., 2008; FALK et al., 1999). Conforme destacam a síndrome intermediária é a principal causa de morte por falência respiratória decorrente de intoxicação aguda por organofosforados.

Embora Ray (1998) refira que essa síndrome aparece entre 5 e 18 dias, outros autores têm demonstrado que o quadro se instala predominantemente num período em torno de 24 a 96 horas após a intoxicação (SENANAYAKE; KARALLIEDDE, 1987; JAYAWARDANE et al., 2008; KAMANYIRE; KARALLIEDDE, 2004).

A síndrome intermediária tem sido registrada em associação a exposição a diversos OP tais como o fention, dimetoato, monocrotofós, matamidofós, parationa metflica (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2001).

Senanayake e Karalliedde (1987) avaliaram 10 indivíduos que desenvolveram a síndrome após um quadro bem definido de efeitos colinérgicos de intoxicação aguda. Os autores observaram que a síndrome evoluiu com paralisia de músculos proximais, flexores cervicais, nervos motores cranianos e respiratórios, num período entre 24 a 96

horas após a intoxicação. Os sintomas de paralisia evoluíram por até 18 dias. A eletromiografia evidenciou redução da força muscular em estimulações de baixa frequência e ausência após fasciculação, sugerindo uma deficiência pós-sináptica.

Jayawardane et al. (2008), consideram essa síndrome como sendo parte da intoxicação aguda, referindo que ela pode aparecer em um período que varia desde antes de 24 horas até após 96 horas após a exposição. Esse estudo envolveu a avaliação eletrofisiológica de 78 indivíduos com sintomas definidos de intoxicação aguda por OP e evidenciou que o diagnóstico da síndrome intermediária pode ocorrer a partir do comprometimento de pelo menos e dos seguintes grupos musculares: flexores cervicais, proximais dos membros superiores ou inferiores, extraocular, facial. Nesse estudo, a maioria dos casos evoluiu para o quadro de síndrome intermediária 24 horas após a exposição. O desenvolvimento de um padrão decrescente da força muscular, especialmente dos flexores do pescoço e proximais dos membros, indica que a falência respiratória é iminente.

Os efeitos neurocomportamentais são considerados como efeitos subagudos resultantes de intoxicação aguda, ou de exposições contínuas, a baixos níveis de agrotóxicos organofosforados, que se acumulam através do tempo, ocasionando intoxicações leves e moderadas. Eles se apresentam, em muitos casos, como efeitos crônicos sobre o Sistema Nervoso Central, especialmente do tipo neurocomportamental como insônia ou sono conturbado, ansiedade, retardo das reações, dificuldade de concentração e uma variedade de seqüelas psiquiátricas: apatia, irritabilidade, depressão e esquizofrenia. O grupo prevalente de sintomas compreendem perda de concentração, dificuldade de raciocínio e, especialmente, falhas de memória. Os quadros de depressão também são frequentes (FALK et al., 1999).

A Polineuropatia Retardada ou *Organophosphate Induced Delayed Neuropathy* (OPIDN) resulta de efeito irreversível de inibição da enzima acetilcolinesterase durante episódio de intoxicação aguda por organofosforados. Pode também resultar de efeito cumulativo por exposição crônica, mesmo em pessoas que jamais vivenciaram uma intoxicação aguda (FALK et al., 1999). Segundo Ray (1998), a lesão decorre do comprometimento dos axônios distais dos neurônios sensoriais, motores e autonômicos, bem como do SNC. Kamanyire e Karalliedde (2004), sugerem que o quadro decorre do comprometimento de longos nervos, tratos nervosos ou do sistema nervoso como um todo, causando fraqueza muscular periférica que acomete mãos e pés, com um variável grau de redução da capacidade sensorial. Essa incapacidade pode se tornar permanente, entretanto, há casos de recomposição. Conforme Ray (1998) o quadro evolui com fraqueza progressiva e ataxia das pernas, podendo evoluir até uma paralisia flácida. O quadro tende a aparecer cerca de 10 a 14 dias após a exposição, para Kamanyire e Karalliedde (2004), o período para a manifestação dos sintomas estaria entre o 7º e o 21º dias após a exposição ao OP.

Conforme destacam Ray e Richards (2001) é importante distinguir o potencial de efeitos decorrentes de exposição a baixas doses, a altos níveis que levam a crise colinérgica aguda, a síndrome intermediária e, para alguns OP, a polineuropatia retardada. Estas outras formas de toxicidade a altas doses são bem caracterizadas. Assim, o grau de inibição requerido para levar a neuropatia esterase-dependente após exposições repetidas é apenas discretamente menor do que aquela que ocorre após uma única exposição. Além do mais, a síndrome intermediária é detectada após a recuperação clínica de um quadro colinérgico severo, não havendo registros de seu surgimento após exposição a níveis moderados.

Ray e Richards (2001) referem que vários estudos têm demonstrado efeitos biológicos decorrentes de exposição a baixas doses, mas que não foram ainda

completamente elucidados. Entretanto, dois efeitos relacionados a consequências da inibição da acetilcolinesterase foram observados: tolerância colinérgica e degeneração de placa motora. O primeiro, relacionado à tolerância colinérgica que ocorre em resposta a exposição prolongada a OPs. Este provavelmente resulta de *down regulation* tanto da liberação de acetilcolina quanto da sensibilidade dos receptores (uma regulação para baixo ou efeito controlador negativo em que há redução do número de receptores celulares). Para produzir essa tolerância agudamente a dose do OP deve estar acima do limite necessário para produzir sinais colinérgicos, porém com uma dose sub-crônica, em que a tolerância possa ser produzida em baixas doses, ainda insuficiente para levar a sinais clínicos.

O Segundo, decorrente da ação tóxica sobre a placa motora muscular, parece estar relacionada a excitotoxicidade local em resposta a despolarização prolongada, levando ao acúmulo de acetilcolina na placa motora. Para os OPs, o limiar de dose está acima daquele necessário para produzir fasciculação muscular.

Outras seqüelas decorrentes da exposição ocupacional à OP têm sido demonstradas em diversos estudos. Casos de infecção respiratória em trabalhadores expostos a OP que evoluíram com diminuição da colinesterase plasmática e eritrocitária (HERMANOWICZ; KOSSMAN, 1984). Murray, Wisemana e Dawling (1992) registraram casos de sintomas compatíveis com infecção viral por influenza. Complicações cardíacas tem sido associadas a intoxicações por OP, em decorrência dos quadros de hipotensão, hipertensão, arritmias e até quadro de cardiomiopatia congestiva seguida de exposição prolongada a OP (KISS; FAZEKAS, 1979). Karalliedde e Senanayake (1989) citam quadros de diarreia profusa em indivíduos intoxicados por ingestão de OP. Hantson et al (1996) registram presença de quadro febril prolongado, e destaca caso de paciente que manifestou termorregulação bifásica logo após a exposição seguida de hipertermia persistente por 48 horas que surgiu 18 dias após.

Os efeitos sub-crônicos foram analisados em animais experimentais, aqui serão apresentados os estudos aportados na ANVISA:

### **Estudo 1**

**Ano:** 1979

**Espécie:** Camundongo (Charles River CD-1)

**Número de animais:** 5/grupo/sexo

**Doses:** 0; 25 e 50 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 29 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

Os animais tratados apresentaram redução na média do peso corpóreo em relação ao grupo controle durante todas as semanas de administração da substância teste. Com exceção da menor dose, os valores de consumo médio de alimento durante o estudo foram menores em todos os grupos tratados quando comparados ao controle.

Não houve estabelecimento de dose sem efeito, uma vez que os animais tratados apresentaram alterações em todas as doses testadas.

### **Estudo 2**

**Ano:** 1979

**Espécie:** Camundongo (Charles River CD-1)

**Número de animais:** 5/grupo/sexo

**Doses:** 100, 200 e 400 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 20 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

O objetivo do estudo foi selecionar os níveis de dose para o estudo de 90 dias em camundongos.

O estudo foi finalizado no dia 20 devido a excessiva mortalidade em todos os grupos tratados com a substância teste. Assim, algumas avaliações como peso e consumo de alimentos não foram realizadas em razão da alta mortalidade dos animais tratados.

Uma fêmea tratada com a menor dose e todos os animais controles sobreviveram até o final do estudo. Todos os outros animais tratados morreram espontaneamente ou estavam moribundos e foram mortos durante os primeiros 12 dias da administração da substância teste.

Os animais tratados exibiram graus variados de tremores, decréscimo de atividade e emaciação (emagrecimento extremo, de causa patológica), durante um ou mais dias de administração da substância teste.

Exames pós morte revelaram que todos os animais tratados apresentaram erosões do epitélio glandular gástrico e congestão acompanhada de petéquias hemorrágicas no pulmão.

### **Estudo 3**

**Ano:** 1981

**Espécie:** Camundongo (Charles River CD-1)

**Número de animais:** 15/grupo/sexo

**Doses:** 0, 10, 30 e 60 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 90 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

A média do peso corpóreo nos animais tratados com a maior dose foi menor que o controle (4 - 20%) durante o estudo. Já os animais tratados com a dose intermediária apresentaram valores médios de peso corpóreo menores que o grupo controle (3 - 7%) durante as primeiras 5 semanas de administração da substância teste, mas foram comparáveis ao controle da 6<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semana.

Foi observado pequeno aumento no peso absoluto e relativo do cérebro de fêmeas e machos tratados com a maior dose. Nos machos esse aumento foi acompanhado por uma redução de 6% da média do peso corpóreo terminal. Nas fêmeas, a média do peso corpóreo terminal foi comparável ao controle.

Os machos apresentaram leve diminuição com dose relacionada na média do peso absoluto e relativo dos testículos em todas as doses. As fêmeas apresentaram peso médio absoluto e relativo dos ovários menor nas doses intermediária e alta. Não foram encontrados alterações histopatológicas no cérebro, testículos e ovários dos animais tratados.

### **Estudo 4**

**Ano:** 1979

**Espécie:** Ratos (Sprague-Dawley)

**Número de animais:** 20/grupo/sexo

**Doses:** 0; 2,5; 25 e 75 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 90 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

Quatorze fêmeas (14/20) e um macho (1/20) tratados com a maior dose morreram ou foram sacrificados em condição moribunda entre o 11º e 24º dia do estudo.

Algumas alterações microscópicas foram observadas no estômago, glândulas salivares submaxilares, tecidos linfóides (especialmente timo e baço) e medula óssea somente nos animais tratados, essas alterações não foram observadas no grupo controle. Essas alterações nos animais tratados estavam presentes primariamente entre animais que morreram ou foram sacrificados em condição moribunda no grupo que recebeu a maior dose (75 ppm). A maioria desses animais (14/15) que morreram ou foram sacrificados são representados por fêmeas tratadas com a maior dose. Entre as fêmeas do grupo tratado com a maior dose, lesões inflamatórias estavam presentes no estômago de 6/14 animais. A porção da cárdia do estômago apresentou gastrite ulcerativa aguda com severidade de leve a moderada em 5 animais e gastrite aguda de severidade mínima em 1 animal. Na maioria desses animais com ulceração na cárdia, acantose e hiperqueratose de severidade leve a moderada também estavam presente.

Entre os animais que morreram ou foram sacrificados em condição moribunda, 6/14 das fêmeas e 1/1 macho analisados apresentaram necrose celular na glândula salivar submaxilar.

Necrose e hiperplasia linfocítica estavam presentes em tecidos linfóides localizados em várias áreas do corpo de fêmeas e machos tratados com a maior dose. Foi observada hiperplasia linfocítica no nódulo linfático do mediastino do grupo tratado com a maior dose (13/14 animais analisados), no grupo controle também foi observada essa alteração em 6 de 11 animais analisados.

Hipocelularidade da medula óssea foi observada em praticamente todas as fêmeas (13/14) tratadas com a maior dose que morreram ou foram sacrificadas em condição moribunda. Essa alteração também foi observada em fêmeas (1/6) que receberam a maior dose e foram sacrificadas ao final do estudo. Isto também ocorreu em 1 macho do grupo tratado com a maior dose que foi sacrificado em condição moribunda.

Várias alterações microscópicas envolvendo o estômago, tecidos linfóides (especialmente o baço e o timo), glândula submaxilar e medula óssea do esterno estavam presente em animais tratados com a maior dose. A maioria dessas alterações foi observada em animais sacrificados em condições moribunda entre o 11º e o 24º dias do estudo. O grau e severidade das lesões foram mais pronunciadas em fêmeas e machos tratados com a maior dose.

As lesões de necrose celular na glândula submaxilar e hipocelularidade da medula óssea de secções do esterno foram diretamente relacionadas à exposição oral com o paration no grupo de maior dosagem.

### **Estudo 5**

**Ano:** 1980

**Espécie:** Ratos (Sprague-Dawley)

**Número de animais:** 20/grupo/sexo

**Doses:** 0; 2,5; 25 e 75 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 90 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

Todas as fêmeas e alguns machos tratados com a maior dose apresentaram tremores, emagrecimento e pigmentação ano-genital.

A média do peso corpóreo nos machos e fêmeas tratados com a maior dose foi significativamente menor que o controle durante todas as semanas de administração da

substância teste. O consumo de alimentos nos grupos de machos e fêmeas tratados com a maior dose foi significativamente maior que o controle durante a 4<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> semana.

Fêmeas expostas à maior dose apresentaram discreta redução na quantidade média de eritrócitos e nos valores da hemoglobina nos 3 meses do estudo e na média dos valores de hematócritos no 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> meses. Os valores médios da hemoglobina foi menor nos machos tratados com a dose intermediária e alta no 1<sup>o</sup> mês e nos machos tratados com a maior dose nos 3 meses do estudo em relação aos valores do controle. A média dos hematócritos nos machos tratados com a maior dose foi menor que o grupo controle.

A média dos valores de fosfatase alcalina estavam aumentados, no 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> meses nos machos tratados com a maior dose e no 1<sup>o</sup> mês nas fêmeas expostas à dose intermediária.

Os níveis médios de nitrogênio e uréia no sangue estavam aumentados e os níveis médios de glicose, proteína total, albumina e globulina estavam reduzidos nas fêmeas tratadas com a maior dose no 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> meses do estudo. Reduções similares foram observadas nos machos tratados com a maior dose nos níveis médios de globulina e proteína total no 1<sup>o</sup> mês e nos níveis de glicose nos 3 meses.

Níveis médios da colinesterase eritrocitária estavam deprimidos nos machos tratados (todas as doses) no 1<sup>o</sup> mês, nas doses intermediárias e alta no 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> meses e nas fêmeas tratadas com as doses de 25 e 75 ppm nos 3 meses do estudo.

Os níveis de colinesterase plasmática estavam reduzidos nos machos tratados com as doses média e alta no 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> meses. Nas fêmeas tratadas com essas doses a colinesterase plasmática apresentou redução nos três meses do estudo.

Ao término do estudo os níveis de colinesterase cerebral estavam deprimidos nas fêmeas tratadas com 25 e 75 ppm e nos machos tratados com a maior dose.

Todos os níveis de colinesterase (eritrocitária, plasmática e cerebral) deprimidos foram considerados relacionados com a administração da parationa metilica.

A média do peso corpóreo terminal estava reduzido nos machos tratados com a maior dose (17%) e nas fêmeas (27%) quando comparado ao grupo controle. Nos machos e fêmeas tratados com a maior dose os seguintes órgão apresentaram redução no peso médio: testículos/ovários (5%, 22%), coração (8%, 12%), rins (10%, 13%) e fígado (15%, 26%). Essas diminuições no peso absoluto dos órgãos foram acompanhadas por reduções na razão entre o peso do órgão/cérebro. A razão entre o peso do órgão e o peso corpóreo estava geralmente elevado devido a redução do peso corpóreo terminal.

Fêmeas (14/20) e machos (1/20) tratados com a maior dose morreram espontaneamente ou foram sacrificados *in extremis* antes do término do estudo. Um pequeno número de lesões grosseiras foram observadas no estômago nos macho e fêmeas tratados com a maior dose. As lesões estavam concentradas na mucosa não glandular, consistindo de áreas/focos descolorados, esbranquiçadas e abrasivas. Alguns ratos apresentaram conteúdo gástrico escuro. Exames pós morte desses animais revelaram evidências microscópicas de gastrite ulcerativa aguda, prostração e necrose linfóide (linfonodos, baço e timo), necrose das glândulas salivares submaxilar e hipocelularidade da medula óssea. Todas essas alterações foram consideradas diretamente relacionadas à administração da substância teste ou secundariamente ao estresse, induzido pela ingestão da parationa metilica.

Não houve estabelecimento de dose sem efeito, uma vez que os animais tratados apresentaram alterações em todas as doses testadas.

## **Estudo 6**



**Ano:**1977

**Espécie:** Cães Beagle

**Número de animais:** 2/grupo/sexo (total de 8 de cada sexo)

**Doses:** 0; 2,5; 5,0; e 10 mg/Kg de peso corpóreo

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 14 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 94,32%

Os cães (machos e fêmeas) tratados com a maior dose vomitaram o alimento ingerido no 3º dia do estudo. Fêmeas e machos tratados com a dose intermediária vomitaram a refeição várias vezes durante a segunda semana, bem como um macho da menor dose. O diretor do estudo considerou esse achado indicativo de inibição da acetilcolinesterase.

A média do consumo de alimentos nos machos tratados com a maior dose e nas fêmeas tratadas com a dose intermediária durante a primeira semana, bem como para todos os animais tratados com a maior dose durante a segunda semana foi significativamente menor que o grupo controle.

A média do consumo de alimento durante a primeira semana do estudo foi significativamente menor nos machos tratados com a maior dose (ambos os sexos) em relação ao controle.

O ganho de peso em fêmeas tratadas com a maior dose durante a segunda semana do estudo foi estatisticamente menor que o controle. No entanto, em ambos os sexos houve perda de peso nos grupos tratados com a dose de 5,0 e 10 mg/Kg de peso corpóreo durante a segunda semana.

Conclusão: A parationa metílica quando administrada na alimentação de cães por duas semanas, sobre as condições do estudo, causou uma significativa diminuição do ganho de peso corpóreo e do consumo de alimento nas doses de 5 e 10 mg/Kg de peso corpóreo.

Não foi estabelecimento de NOEL, visto que todos os animais tratados apresentaram alterações.

### Estudo 7

**Ano:**1978

**Espécie:** Cães Beagle

**Número de animais:** 4/grupo/sexo (total de 16 de cada sexo)

**Doses:** 0; 0,3; 1,0; 3,0 mg/Kg de peso corpóreo por dia

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 90 dias

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 94,32%

Ocasionalmente os cães apresentaram vômitos espontâneos. Houve diferenças estatísticas nos valores médios de alguns parâmetros entre cães tratados e os correspondentes controles em vários intervalos durante o curso do estudo. Machos e fêmeas tratados com a maior dose apresentaram na 6ª semana de tratamento diminuição (estatisticamente significativa) da colinesterase plasmática, assim como na 13ª semana nos machos tratados com a dose intermediária e em ambos (machos e fêmeas) tratados com a maior dose.

A contagem de células sanguíneas foi menor (estatisticamente significativa) em ambos os grupos tratados com a maior dose na 6ª semana e na dose intermediária e maior, em ambos os sexos, na 13ª semana em relação ao controle

A colinesterase cerebral foi significativamente deprimida em ambos os grupos tratados com a maior dose quando comparado ao grupo controle.

O peso médio da glândula pituitária no grupo de fêmeas tratadas com a maior dose foi estatisticamente maior que a média do peso da glândula pituitária das fêmeas do grupo controle. Histologicamente, entretanto, a glândula pituitária desses cães, não apresentou nada digno de nota.

Um outro estudo com cães alimentados com parationa metílica por 12 semanas, com um nível dietético de 1.25 mg/kg causou uma depressão significativa de hemácias e da acetilcolinesterase eritrocitária e plasmática. Nível dietético de 0.125 mg/kg não produziu nenhum efeito (GALLO e LAWRYK, 1991 apud E X T O X N E T, 1996).

Conclusão: A administração da parationa metílica, quando administrada a cães nas condições do estudo, causa uma significativa diminuição das células vermelhas do sangue e da colinesterase cerebral em machos e fêmeas tratados com a maior dose e uma redução da colinesterase plasmática (somente nos machos) bem como diminuição das células vermelhas do sangue nos machos e fêmeas tratados com 1 mg/Kg de peso corpóreo/dia.

#### ***4.4 Toxicidade crônica e carcinogenicidade***

Na fisiopatologia dos efeitos crônicos decorrente da exposição aos agrotóxicos estão envolvidos, além dos aspectos toxicológicos próprios de cada produto, as características da exposição tais como a intensidade, a duração e a interação com outros produtos químicos, com os quais pode haver potencialização da ação tóxica, e outros condicionantes envolvidos biosociais do exposto.

Estudos de toxicidade crônica da parationa metílica com voluntários humanos encontraram um NOAEL de 1 a 22 mg/pessoa/dia para não ter nenhum efeito na atividade sobre acetilcolinesterase. Em um estudo de 4 semanas com 22, 24, 26, 28 ou 30 mg/ pessoa/dia, inibição leve da acetilcolinesterase apareceu em indivíduos nos grupos traados com 24, 26 e 28 mg/ pessoa/dia. No grupo de 30 mg/pessoa/dia a atividade da acetilcolinesterase eritrocitária foi comprometida em 37% (GALLO; LAWRYK, 1991 apud EXTOXNET, 1996).

A exposição crônica aos organofosforados também está relacionada, entre outros, ao câncer, efeitos teratogênicos, neuropatias periféricas tardias e toxicidade reprodutiva (CALDAS; SOUZA, 2000).

##### **4.4.1 Estudos de mutagenicidade, genotoxicidade e carcinogenicidade**

A mutação no DNA é a alteração genuína do processo de carcinogenicidade (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003). Essa mutação pode ser causada por agentes químicos, como os agrotóxicos, que podem induzir o câncer por mecanismos variados como genotoxicidade e promoção de tumores (RODVALL; DICH; WIKLUND, 2003).

A maioria dos carcinógenos apresenta uma propriedade em comum: são eletrofílicos altamente reativos que interagem com locais nucleofílicos na célula; sendo o DNA alvo de preferência (SANTOS et al., 2008). Nessa ligação são formados os adutos de DNA pela formação de ligações covalentes. Essa formação pode mutar proto-oncogenes ou genes supressores de tumor e iniciar o processo de carcinogênese (KINZLER; VOGELSTEIN, 1996, apud LOUREIRO; MASCIO; MEDEIROS, 2002). Após essa mutação ocorrem alterações no processo de divisão celular que resultam na perda de características funcionais e na formação de tumores (CUNNINGHAM; MATTHEWS, 1995).

A correlação entre câncer e agrotóxico está mais bem caracterizada nos cânceres de pulmão, de mama, dos testículos, da tireóide, da próstata, do ovário, e do sistema hematopoiético (PIMENTEL, 1996).

No Brasil, um estudo entre agricultores expostos a agrotóxicos da região Serrana do Rio de Janeiro mostrou uma alta taxa de mortalidade para câncer de estômago, de esôfago, de laringe, de boca e leucemias (MEYER et al, 2003). Os organofosforados são utilizados amplamente nessa região (ARAÚJO et al, 2007).

Dados na literatura indicam que vários organofosforados são mutagênicos (MOHAMMED, 1999; MATSUHITA; MATSUI; MATSUI, 2006; MATSUHITA et al, 2005). Entre os dados apresentados destacam-se a mutagenicidade dos metabólitos dos organofosforados (CORTEZ-ESLAVA, 2001; MATSUHITA; MATSUI; MATSUI, 2006; MATSUHITA et al, 2005;), que muitas vezes são mais mutagênicos do que o princípio ativo.

Também é destacado o sinergismo desses compostos e seus metabólitos com aminas aromáticas, moléculas pré-mutagênicas e promotoras de câncer. As aminas aromáticas são utilizadas em vários processos da indústria têxtil e na produção de fármacos, agrotóxicos e plásticos. O sinergismo aqui descrito provoca um aumento da mutagenicidade dessas aminas (WAGNER; MARENGO; PLEWA, 2003).

Ensaio biológicos *in vitro* e *in vivo*, mediante análise genotóxica e carcinogênica de organofosforados apontam efeitos decorrentes de mutações gênicas, cromossômicas e de lesões na estrutura bioquímica do DNA humano, mostrando assim o potencial mutagênico e/ou carcinogênico desse grupo de agrotóxicos.

Os estudos aportados na ANVISA sobre mutagenicidade da parationa metílica podem ser observados na tabela 6. A maioria desses estudos são negativos para efeitos mutagênicos contrastando com os resultados de estudos publicados na literatura científica ou por instituições internacionais de órgãos reguladores (IPCS e ATSDR).

**Tabela 6 - Ensaio *in vivo* e *in vitro* conduzidos para aferir o potencial mutagênico e genotóxico do ingrediente ativo parationa metílica**

Tipo do teste	Microrganismo/animal/linhagem celular	Pureza (%)	Doses	Resultados	Referência
Ames	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas - TA 100, TA 1537, TA 98 e TA 1535.	94,5	20; 100; 500; 2.500; 12.500 µg/placa * Meio com e sem ativação metabólica	Houve claro efeito mutagênico	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas: TA 97a, TA 98, TA 100 e TA 1535.	80,5	1, 10, 100, 1.000 e 5.000 nL * Meio com e sem ativação metabólica.	A parationa metílica <b>produziu mutações</b> na cepa TA1535 no teste com ativador metabólico.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas TA97a, TA98, TA100 e TA102.	80%	0,56; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 µL/placa * Meio com e sem ativação metabólica	O produto foi considerado <b>mutagênico</b> para as cepas TA100 e TA102.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	* <i>Salmonella typhimurium</i> , Cepas: TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98 e TA 100. E * <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Cepa: D4.	Não informada	0,001; 0,01; 0,1 e 5,0 µL/placa * Meio com e sem ativação metabólica	Houve <b>toxicidade</b> para as cepas TA 1535, TA 1537 e TA 100 na concentração de 5,0µL/placa.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	<i>Salmonella typhimurium</i> Cepas TA 97a, TA 98, TA 100 e TA 1535.	80%	0,001; 0,01; 0,05; 0,1 e 1mg/placa * Meio com e sem ativação metabólica	O produto <b>não causou mutagenicidade</b> comparado com o controle positivo utilizado no ensaio, tanto para o meio com ativação e o sem ativação.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	<i>Salmonella thyphimurium</i> . Cepas: TA100; TA98, TA97a e TA102	80%	Sem ativação metabólica: CepaTA100: 8, 16, 24, 32 e 40 µl/placa. Com ativação metabólica: Cepa TA100: 200, 400, 600, 800 e 1000 µl/placa Cepas TA98, TA 97a e TA 102: 1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 µl/placa.	<b>Negativo</b>	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	<i>Salmonella thyphimurium</i> . Cepas: TA100; TA98, TA97a e TA102	97,4%	Sem ativação metabólica: Cepa TA100: 8, 16, 24, 32 e 40 µl/placa. Com ativação metabólica: CepaTA100: 200, 400, 600, 800 e 1000 µl/placa Cepas TA98, TA 97a e TA 102: 1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 µl/placa.	<b>Negativo</b>	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	* <i>Salmonella thyphimurium</i> . Cepas: TA100; TA98, TA97a, TA102 E * <i>Escherichia coli</i>	80%	Sem ativação metabólica: Cepas TA100 e TA98: 1000; 2000; 3000; 4000 e 5000 µg/placa. Cepas TA97a, TA102 e WP2: 200; 400;	<b>Negativo</b>	Dossiê de registro submetido à ANVISA

	Cepa: WP2.		600; 800 e 1000 µg/placa.  Com ativação metabólica: 1000; 2000; 3000; 4000 e 5000 µg/placa, para todas as linhagens.		
Ames	<i>Salmonella thyphimurium</i> . Cepas: TA100; TA98, TA97a, TA102 E <i>Escherichia coli</i> Cepa: WP2.	80%	Com e sem ativação metabólica: Cepas TA100 e TA98: 1000, 2000, 3000, 4000 e 5000 µg/placa. Cepa TA97a: 1000, 1250, 1500, 1750 e 2000 µg/placa Sem ativação metabólica: CepaTA102 e WP2: 40, 80, 120, 160 e 200 µg/placa. Com ativação metabólica: Cepa TA102 e WP2: 200, 400, 600, 800 e 1000 µg/placa.	Negativo	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ames	<i>Salmonella thyphimurium</i> . Cepas: TA100; TA98, TA97a, TA102 E <i>Escherichia coli</i> Cepa: WP2.	80%	Sem ativação metabólica: para todas as linhagens: 8; 16; 24; 32 e 40 µg/placa. Com ativação metabólica: para todas as linhagens: 200; 400; 600; 800 e 1000 µg/placa.	Negativo	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongos Strain: Bor:NMRI (SPF Han)	95,6	5,0 e 10 mg/kg de peso corpóreo.	O produto foi considerado <b>não mutagênico</b> por não induzir a formação de micronúcleos com as doses testadas em relação ao controle positivo.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongos albino Linhagem: Swiss	80,5	32; 21 e 11 µg/Kg	Negativo	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongos machos Linhagem: Swiss	61,75%	0,45mg/Kg do produto.	Negativo	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongos Linhagem: Swiss	80%	7; 13 e 20 mg/Kg que corresponde a 25, 50 e 75% da DL50 determinada.	Nas condições do teste, o produto <b>não causou atividade mutagênica</b> .	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongos Linhagem: Swiss	80%	4,07; 6,79 e 10,86 mg/kg, correspondente 30, 50 e 80% da DL50.	Negativo	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongo Linhagem: Swiss	83,9%	4,12; 6,87 e 11,0 mg/Kg que corresponde 30; 50 e 80% da DL50.	Negativo	Dossiê de registro submetido à ANVISA

Micronúcleo	Camundongos Linhagem: Swiss	80%	4,317; 7,195 e 11,512 mg/Kg, o que corresponde a 30, 50 e 80% da DL50.	<b>Negativo</b>	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Camundongos Linhagem: Swiss	80%	3,648; 6,080 e 9,728 mg/Kg que correspondem a 32, 53 e 84,53 da DL50 estimada..	<b>Negativo</b> Observação: todos os animais apresentaram tremores e prostração após administração do produto.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Micronúcleo	Células da medula óssea de ratos Wistar.	Não informada	1, 2 e 4 mg/kg *Tratamento: dose única administrada por injeção intra-peritoneal *Análise: 30h após tratamento	<b>Positivo</b>	Grover; Malhi (1985)
Micronúcleo	Células da medula óssea de ratos Wistar	Não informada	3,5 mg/kg administrada em dose única por injeção intra-peritoneal *Análise: 1 - 2dias após tratamento	<b>Positivo</b>	Vijayaraghava; Nagarajan (1994)
Micronúcleo	Células da medula óssea de camundongos Swiss	Não informada	9,4, 18,8, 37,5 e 75 mg/kg. *Tratamento: dose única via oral. *Análise: 24, 48 e 72h após tratamento	<b>Positivo</b>	Mathew et. al. (1990)
Síntese de DNA	Hepatócitos de ratos	Não informada	0,0003; 0,001; 0,003; 0,01; 0,03; 0,1; 0,3; 1,0; 3,0 e 10 µL/mL	<b>Resultado questionável</b>	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Ensaio com células germinativas de ratos	Células germinativas de ratos.	95,7	10mg/Kg em dose única via oral para os machos.	O produto <b>não induziu efeitos mutagênicos</b> adversos na dose testada.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Cultura de células <i>in vitro</i>	Células do ovário de Hamster Chinês.	97,3	2,50; 5,00; 10,00; 25,00; 50,00; 75,00; 100,00; 125,00 e 150,00 µg/ml. * Meio com e sem ativação metabólica	<b>Resultado questionável (ausência de efeito dose relacionada no aumento da frequência de mutantes)</b> Foi observado fraco efeito citotóxico na ausência de ativação metabólica.	Dossiê de registro submetido à ANVISA
Mutação gênica reversa	<i>Salmonella. typhimurium</i> (TA100NR)	Não informado	5 e 100 µg/placa (sem ativação metabólica)	<b>Negativo</b>	Vijayaraghava; Nagarajan (1994)
Mutação gênica reversa	<i>Salmonella. typhimurium</i> (TA100)	Não informado	10 -1000 µg/placa (com e sem ativação metabólica)	<b>Positivo</b>	Breau et. al. (1985)
Mutação gênica reversa	* <i>Salmonella. typhimurium</i> - Cepas: TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538 * <i>Escherichia coli</i> Cepas: WP2, WP2uvrA, WP67, CM611 e CM571	99,4	* <i>S.typhimurium</i> : 5 - 1250 µg/placa em meio com e sem ativação metabólica * <i>E. coli</i> : 250 - 2000 µg/placa em meio com e sem ativação metabólica	<b>Positivo</b> (para a cepa a TA100 em meio com ativação metabólica)	Rashid; Mumma (1984)

Mutação gênica reversa	<i>Salmonella. typhimurium</i> - Cepas: TA100, TA98, TA1535, TA1537	94 - 96	<b>Ensaio 1)</b> Doses: 20 - 8000 µg/placa em meio com e sem ativação metabólica <b>Ensaio 2)</b> Doses: 20 - 10000 µg/placa em meio com e sem ativação metabólica	Ensaio 1 - <b>Positivo</b> para as cepas TA100 e TA1535 em meio com ativação metabólica. Ensaio 2 - <b>Positivo</b> para a cepa TA100 e <b>resultado confuso</b> para a cepa TA98, ambas em meio com ativação metabólica.	Herbold (1983)
Dano ao DNA	* <i>Salmonella. typhimurium</i> - Cepas: TA1538 (a), TA1978 (b)) * <i>Escherichia coli</i> - Cepas: K-12, WP2	99,4	250 - 1000 µg/placa em meio com e sem ativação metabólica	<b>Positivo</b> no ensaio com <i>S. typhimurium</i> cepa TA1538 (houve deficiência no reparo do DNA) e <b>negativo</b> no ensaio com <i>E. coli</i> .	Rashid; Muma (1984)
Dano/Reparo do DNA Ensaio Cometa	Linfócitos periféricos humanos	98,0	10 - 200 µg/ml em meio sem ativação metabólica tratadas por 0,5 h.	<b>Positivo</b>	Undeger; Basaran (2005)
Quebra do DNA	Plasmídeo Col-E1	Não informada	250 - 1000 µg/placa sem ativação metabólica	<b>Positivo</b>	Griffin; Hill (1978)
Aberrações cromossômicas	Linfócitos humanos periféricos de indivíduos fumantes crônicos e não fumantes	Não informada	0,02; 0,04 e 0,08 µg/ml	<b>Positivo</b> para fumantes e <b>negativo</b> para não fumantes	Sunil Kumar et. al. (1993)
Aberrações cromossômicas	Amostras de esperma humano	Não informada	50, 300, 500 e 750 µM	<b>Positivo</b>	Salazar-Arredondo et. al. (2008)
Aberrações cromossômicas	DNA espermático, células em meiose e maturação epididimal de camundongos	Não informada	3, 6, 10 e 20 mg/Kg Tratamento: 4 semanas	<b>Positivo</b>	Piña-Guzmán et al. (2006)
Aberrações cromossômicas	Amostra de esperma de ratos Wistar	Não informada	0,5; 0,75; 1, 2 e 3 mg/kg administrada por injeção intra-peritoneal no período de 12 e 25 dias contínuos.	<b>Positivo</b>	Narayanal. (2005)
Aberrações cromossômicas	Células de medula óssea de ratos Wistar	90,0	0,25, 0,33 e 0,50 mg/kg administrada por via oral durante 6 semanas	<b>Negativo</b>	Nehez et. al (1994)
Aberrações cromossômicas	Células de medula óssea de ratos Wistar	Não informada	Dose única de 3,5 mg/kg administrada por injeção intra-peritoneal	<b>Positivo</b>	Vijayaraghava; Nagarajan (1994)
Aberrações cromossômicas	Células de medula óssea de ratos Wistar	Não informada	0,5, 1,0 e 2,0 mg/kg administrada por injeção intra-peritoneal *Tratamento: 5 dias/ 7 semana *Análise: 24h após tratamento	<b>Positivo</b> (o efeito foi dose relacionada)	Grover; Mahli (1987)
Dano Citogenético / Recombinação (SCE)	Linfócitos humanos	Não informada	9,5 - 38 µg/ml sem ativação metabólica	<b>Positivo</b>	Singh et. al. (1984)
Dano Citogenético / Recombinação (SCE)	* Células de ovário de hamster chinês - V79, (com e sem ativação metabólica) * Células de linfomas humanos B35M sem ativação metabólica	96,8	10 - 40 µg/ml (no período de 28 - 72 horas)	<b>Positivo</b>	Chen et. al. (1981)

Mutação Recessiva Letal Ligada ao Sexo (SLRL)	Larvas de 24, 48 e 72 h de <i>Drosophila melanogaster</i> , alimentadas com dimecron no período de 24, 48 ou 72 hs	Não informada	0,0315; 0,063 e 0,125 ppm	<b>Positivo</b>	Tripathy et. al. (1987)
Mutação Dominante Letal	Camundongos Q	99,0	Dose única de 10 mg/kg administrada por injeção intra-peritoneal	<b>Negativo</b>	Degraeve; Moutschen (1984)
Ligação com DNA	Ratos Wistar e camundongos	99,0	1,31 (ensaio <i>in vivo</i> ) e 0,033 ( <i>in vitro</i> ) $\mu\text{mol/kg}$ (administrada por injeção intra-peritoneal)	<b>Positivo</b> (em ambos os ensaios)	Bartoli et. al. (1991)



Estudo sobre a carcinogenicidade da parationa metílica aportado na ANVISA, realizado em 1993.

**Espécie:** Rato (Sprague Dawley)

**Número de animais:** 60/grupo/sexo

**Doses:** 0; 0,5; 5,0 e 50 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** 2 anos

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

**Resultados:** em oito machos tratados com a maior dose (50 ppm) foi observado ligeiros tremores durante a 3ª semana de tratamento e em um macho na 6ª semana. Tremores também foram frequentemente observados em todas as fêmeas tratadas com 50 ppm da substância teste durante os primeiros quatro meses do estudo. Após os quatro meses iniciais, essa alteração foi observada somente esporadicamente em poucas fêmeas durante o período restante do tratamento. Alopecia de graus variados foi observado em todos os machos e fêmeas tratados com a substância teste durante o estudo. A incidência dessa alteração foi consistentemente maior nas fêmeas que receberam a maior dose do que no grupo controle e outros grupos tratados. Um pequeno número de fêmeas tratadas com 50 ppm da substância teste apresentou pigmentação amarela na região ano-genital. A frequência desse achado foi maior nas fêmeas que receberam a maior dose do que nos controles e nos outros grupos de fêmeas tratadas. No início da 19ª semana, várias fêmeas do grupo de alta dosagem exibiram uma forma anormal de caminhar envolvendo os membros posteriores, essa alteração persistiu até o término do estudo. Esse achado também foi apresentado por uma fêmea tratada com a dose intermediária a partir da 77ª semana até o final do estudo, e em um macho tratado com a maior dose entre as 44ª e 59ª semanas. A presença e/ou ausência na incidência de tremores, alopecia, pigmentação ano-genital e forma anormal de locomoção, observados predominantemente no grupo de fêmeas, tratadas com a maior dose foi atribuído ao tratamento. Com relação à avaliação oftalmológica, 15 fêmeas tratadas com a maior dose apresentaram degeneração da retina no 24º mês e 10 fêmeas no 28º mês. Cinco fêmeas que manifestaram essa alteração no 24º mês morreram ou foram sacrificadas em condição moribunda antes do exame terminal. A análise final também indicou uma aparente ocorrência de catarata subcapsular posterior relacionada à dose. Esse achado pode ser parcialmente relacionado e secundário à degeneração da retina, uma vez que esse tipo de catarata frequentemente acompanha a degeneração da retina. Cinco das dez (5/10) cataratas subcapsulares ocorreram em ratos que também apresentavam degeneração da retina. Os animais tratados com a maior dose exibiram redução na média do peso corpóreo, aproximadamente -6%, em relação ao controle durante todo o estudo e foi relacionada à administração da substância teste. Os valores médios da colinesterase plasmática foram significativamente reduzidos nos machos e fêmeas tratados com a maior dose no 6º mês (-71%, -86%), 12º mês (-67%, -87%), 18º mês (-75%, -88%) e ao término do estudo (-82%, -82%). A colinesterase eritrocitária apresentou reduções nos machos tratados com a maior dose no 6º mês (-13%), 12º mês (-16%), 18º mês (-20%) e ao término do estudo (-9%). Similares diferenças foram encontradas entre o controle e as fêmeas tratadas com 50 ppm da substância teste no 12º mês (-9%) e 18º mês (-14%), mas não ao término do estudo. O média da colinesterase cerebral foi reduzida nos machos (-76%) e fêmeas (-79%) tratados com a maior dose ao término do estudo. Todos os decréscimos nos valores médios da colinesterase (plasmática, eritrocitária e cerebral), observados em machos e fêmeas tratados com a maior dose, apresentaram significância estatística e foram considerados relacionados ao

tratamento com a substância teste. Machos e fêmeas que receberam a dose intermediária exibiram ligeiras reduções nos valores da colinesterase eritrocitária, contudo não foi estatisticamente relevante e sem clara relação com a administração do produto.

Análises patológicas revelaram anormalidades nos pulmões, fígado, glândulas pituitárias e adrenais, rins e tecido subcutâneo. Essas alterações foram descritas como descoloração, alargamento, cistos, nódulos, massas, cálculos, adesões, entre outras. Várias lesões inflamatórias e degenerativas ocorreram em diferentes órgãos e tecidos. A maioria dos órgãos comumente afetados foram pulmões, rins, testículos com epidídimos e próstata nos machos e glândulas mamárias nas fêmeas. Nos rins, a síndrome chamada “nefropatia crônica” afetou a grande maioria dos ratos. Pneumonia crônica intersticial foi observada em mais 50% dos animais, as lesões nos pulmões foram caracterizadas por infiltração intersticial, hiperplasia linfóide peribronquial/perivascular e a presença de macrófagos nos espaços alveolares. Os ratos, principalmente machos, que morreram espontaneamente, sofreram de broncopneumonia purulenta, caracterizada pela presença de largos abscessos com necrose nas áreas centrais, circundada por massas de células polimorfonuclear e mononuclear e grandes quantidades de exudado. Inflamação granulomatosa ocorreram frequentemente nos animais tratados com a maior dose. Nos testículos de mais de 25% dos machos foi observado atrofia de epitélio germinal, acompanhado por oligoespermia/aspermia do epidídimo. Um grande número de machos apresentou prostatite aguda. Outras alterações foram observadas nas glândulas adrenais (hematocistos) e glândulas mamárias (galactocele) predominantemente nas fêmeas e atrofia do timo em ambos os sexos. O diretor do estudo considerou as alterações nos rins, pulmões, testículos, epidídimo, próstata, timo, glândulas adrenais e mamárias como não relacionadas ao tratamento. Atrofia unilateral e bilateral na retina ocorreram em um significativo número de fêmeas tratadas com a dose de 50 ppm quando comparado ao controle. As lesões não neoplásicas presentes nos olhos das fêmeas tratadas com a maior dose foi atribuída à administração da parationa metilica na dieta de ratos durante dois anos. Não houve diferença significativa entre o controle e grupos tratados quanto ao número de animais com neoplasmas primários benignos e malignos. Neoplasmas ocorreram principalmente nas glândulas pituitárias, adrenais e mamárias de fêmeas e não houve diferenças quanto à incidência nos grupos tratados e não tratados. Neoplasmas do córtex da adrenal (adenomas e carcinomas) foram numerosos, mas a distribuição em todos os grupos não indica um claro efeito relacionado ao tratamento. Outros neoplasmas benignos e malignos também ocorreram em um pequeno número em vários tecidos e órgãos, mas sua distribuição aleatória nos grupos tratados e no controle não forneceu evidências de relação com a ingestão da substância teste. Não houve estabelecimento de NOEL, uma vez que todos os grupos, inclusive os controles, apresentaram alterações.

Há vários estudos na literatura que apontam a genotoxicidade da parationa metilica. Esses estudos foram avaliados em sistemas *in vitro* e *in vivo* com observações de mutações gênicas, aberrações cromossômicas, indução de micronúcleos, danos e reparo do DNA, entre outros, podendo ser observados na tabelas 6. Segundo a Lei Federal nº 7.802 de 11/07/1989 (BRASIL, 1989) o dado comprovado de mutagenicidade gênica e/ou cromossômica de um agrotóxico é suficiente para proibição de seu registro.

Os dados apresetados nas tabelas acima corroboram com os do IPCS que mostram estudos positivos de mutagenicidade principalmente em testes de aberrações cromossômicas e trocas de cromátides irmãs (IPCS, 1992). Como pode ser observado na tabela 6, há evidências claras nos testes *in vitro* de mutação gênica (reversa), em ensaios na presença e/ou na ausência de ativação metabólica (mistura S9) utilizando *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*, da mutagenicidade da parationa metílica, assim como em testes de aberrações cromossômicas e quebras de DNA. Também foram observadas *in vivo* aberrações cromossômicas e indução de micronúcleos.

A Agência de Registro de Substâncias Tóxicas e de Doenças (ATSDR) descreve um estudo de Van Bao e colaboradores de 1974, que estudaram aberrações cromossômicas em linfócitos de cinco pacientes expostos a esse agrotóxico. Apesar das limitações apontadas pela ATSDR como a amostra pequena, ausência de grupo controle e uma possível exposição do grupo a outras substâncias, o estudo sugere efeitos genotóxicos nos cromossomos (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001). Além disso, também são descritos por essa agência que altos níveis de parationa metílica causam alterações morfológicas em espermatozoides de animais (MATHEW et al. 1992; PAGULAYAN et al. 1994 apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001).

A exposição de mulheres grávidas à parationa metílica pode produzir teratogênese e alterações no neurodesenvolvimento e na maturação comportamental do feto (AHLBOM; FREDRIKSSON; ERIKSSON, 1995; COSTA, 2006; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999).

#### **4.5 Toxicidade sobre o sistema endócrino, reprodutivo e desenvolvimento.**

##### **4.5.1 Toxicidade sobre o sistema endócrino**

A toxicidade endócrina ou desregulação endócrina é um efeito adverso que interfere com uma ou mais das diversas funções desempenhadas pelo sistema endócrino. Esse sistema desempenha função essencial nos processos metabólicos do organismo como os processos nutricionais, comportamentais, reprodutivos, funções cardiovasculares, renais e intestinais.

Em seres humanos foi observado o aumento da incidência de câncer em órgãos reprodutivos masculino e feminino. Alguns desses cânceres podem ser explicados pela capacidade de certas substâncias químicas mimetizarem a ação de hormônios tais como estrógenos e andrógenos. Na Europa observou-se um aumento da incidência de cânceres de testículo, próstata e útero (BRAY et al, 2006 apud WOODRUFF et al, 1994).

Em estudos com animais de laboratório expostos a organofosforados foram observadas diversas alterações de níveis hormonais: hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), corticosterona, hormônio do crescimento e prolactina (KOKKA; CLEMONS; LOMAX, 1987; SPASSOVA; WHITE; SINGH, 2000; CLEMENT, 1985); triiodotironina (T3), tiroxina (T4) e hormônio tireo-estimulante (TSH) (CLEMENT, 1985; CAMACHO; DWARKANATHAN, 1999); progesterona (HONG et al, 2007) e testosterona (CLEMENT, 1985).

Alterações morfológicas em células tireoideanas (SATAR ET AL, 2005; SATAR ET AL, 2008) e diversas alterações em nível do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (SPASSOVA; WHITE; SINGH, 2000) também já foram observadas.

A exposição a organofosforados pode ainda alterar a atividade da aromatase, enzima responsável pela conversão de andrógenos e estrógenos (LAVILLE et al, 2006). A inibição ou indução da expressão ou atividade dessa enzima pode modificar os níveis

de hormônios andrógenos e estrógenos. As alterações dos hormônios sexuais podem impactar de maneira significativa no desempenho reprodutivo masculino e feminino.

No estudo de Petit e colaboradores (1997) foram realizados dois testes, sendo que o primeiro foi realizado em um sistema de levedura que expressa um gene de receptor de estrogênio de truta e cuja ligação é medida através da produção de  $\beta$ -galactosidase. O outro teste realizado utilizou hepatócitos de truta, que são células-alvo do estrogênio em peixes, e que possuem aparato metabólico mais complexo que o sistema de levedura (CRAVÉDI et al, 1996). O marcador biológico para a exposição a estrógenos nesse modelo avalia a produção de vitelogenina.

A parationa metílica foi testada nos dois sistemas, mostrando fraco efeito estrogênico em leveduras (PETIT et al, 1997). Entretanto, no sistema que utilizou hepatócitos, mostrou-se altamente estrogênica. A diferença dos resultados apresentados pela parationa metílica pode ser explicada pela limitação metabólica do sistema de levedura. Dessa maneira, a atividade estrogênica da parationa metílica muito provavelmente deve-se a um metabólito produzido nos hepatócitos e ausentes no sistema de levedura (PETIT et al, 1997).

Aves machos adultos foram expostos a baixas doses de parationa metílica (10 e 20  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de peso corpóreo/ dia) durante 5 ou 10 dias. Os níveis dos hormônios LH e testosterona estavam diminuídos nos grupos tratados com ambas as doses de parationa metílica por 5 e 10 dias e naquele tratado por 10 dias e sacrificado 5 dias após o fim do tratamento. A diminuição desses hormônios pode ter desencadeado os efeitos tóxicos sobre o sistema reprodutivo das aves, como diminuição do peso dos testículos, do diâmetro dos túbulos seminíferos, do número de espermatozoides normais e alterações nas células germinativas (MAITRA et al, 2008). Essas alterações serão melhor exploradas no item de toxicidade reprodutiva.

A interferência com a esteroidogênese (produção dos hormônios esteroideanos) é um importante mecanismo de desregulação endócrina. A enzima aromatase pertencente ao complexo enzimático da família citocromo P450 (CYP) catalisa a conversão de andrógenos em estrógenos (MENDELSON et al, 1985; Thompson & Siiter, 1974). A linhagem celular JEG-3 derivada de tecidos placentários é utilizada para avaliar a atividade da aromatase. No estudo de Laville e colaboradores a parationa metílica induziu a atividade de aromatase na concentração de 10  $\mu\text{M}$  após 24 horas de exposição (LAVILLE et al, 2006). A indução da atividade da aromatase leva a uma maior produção de estrógenos e, conseqüentemente à diminuição dos precursores andrógenos.

Paralelamente, os estudos aportados também mostraram a interferência da parationa metílica com órgãos do sistema endócrino. No estudo 5 de toxicidade subaguda e subcrônica foram observadas alterações dos pesos de ovários e testículos de ratos tratados durante 90 dias por via oral com parationa metílica. No estudo 7, onde cães foram tratados durante 90 dias por via oral foi observada alteração de peso da pituitária.

A insulina é um hormônio sintetizado nas células beta do pâncreas que possui diversas funções relacionadas principalmente ao metabolismo energético do organismo, dentre outras: (i) captação, armazenamento e utilização da glicose pelas células; (ii) síntese de ácidos graxos; (iii) armazenamento do excesso de gordura no tecido adiposo; (iv) armazenamento de proteínas nos tecidos (MASHARANI; KARAM, 2001).

Ratos foram tratados com 10 mg/kg por via oral com parationa metílica e 1 hora depois tiveram os níveis de glicose sanguínea e insulina sérica quantificados. Hiperglicemia e hipoinsulinemia foram observadas e, mesmo após exercícios físicos esses níveis não foram alterados. Em condições normais o exercício físico diminuiria os

níveis de insulina, mas manteria os níveis de glicemia normais (LUKASZEWICZ-HUSSAIN et al, 1985).

A diminuição de insulina ocorre na diabetes mellitus tipo 1 e também já foi observada após a exposição a substâncias químicas que desencadeiam eventos “diabetes-semelhantes” (LUKIC et al, 1998; SZKUDELSKI, 2001; LENZEN, 2008). Agrotóxicos organofosforados também podem desencadear efeitos adversos associados à diabetes (MEGGS; BREWER, 2007; ABDOLLAHI et al, 2004) mesmo após a exposição durante a gestação e lactação (LASSITER et al, 2008; LASSITER et al, 2008; MEYER et al, 2004; SLOTKIN et al, 2005). Nessas condições de hipoinsulinemia, diversos efeitos graves são desencadeados não só prejudicando a qualidade de vida do indivíduo, mas podendo levar à morte (FORD et al, 2005; LEE et al, 2008).

Durante a hipoinsulinemia ocorre a mobilização de gordura para o sangue circulante que deveria ter sido armazenada no tecido adiposo. O acúmulo de triglicérides e colesterol no sangue podem desencadear a aterosclerose, ataques cardíacos, acidentes vasculares cerebrais (GUYTON; HALL, 1996). Além disso, o acúmulo de ácidos graxos no fígado leva à formação de corpos cetônicos (ácido acetoacético, acetona e ácido  $\beta$ -hidroxibutírico), que podem levar ao coma e à morte (NELSON; COX, 2004). A depleção protéica, que também ocorre quando a insulina encontra-se diminuída, provoca fraqueza e comprometimento de diversas funções orgânicas (GUYTON; HALL, 1996; NELSON; COX, 2004).

#### 4.5.2 Toxicidade reprodutiva

Em seres humanos foi observado o aumento da incidência de câncer em órgãos reprodutivos masculino e feminino. Alguns desses cânceres podem ser explicados pela capacidade de certas substâncias químicas mimetizarem a ação de hormônios como estrógenos e andrógenos. Na Europa observou-se um aumento dos cânceres de testículos, próstata útero (WOODRUFF et al, 2008).

Alterações no sistema reprodutivo podem ser destacadas as observações sobre danos morfológicos e funcionais como: a irregularidade no ciclo menstrual, a diminuição da contagem de espermatozoides (WOODRUFF et al, 2008), a redução do volume e aumento do pH do sêmen, com alteração na morfologia e motilidade dos espermatozoides em pulverizadores expostos aos organofosforados (YUCRA et al, 2008; 2006).

Ogi e Hamada (1965) registraram em 18 gestantes, após pulverização de parationa metílica, abortamento e malformações de membros. Outra pesquisa realizada por Bell et al (2001), realizada em 1984, mostrou a ocorrência de óbitos fetais devido a malformações congênitas entre gestantes da Califórnia que residiam próximo de áreas de aplicação de agrotóxicos, entre eles a parationa metílica. Foi encontrada uma elevação no risco relativo de perda fetal por anomalias congênitas de acordo com o maior tempo de exposição, principalmente quando esta ocorria entre as terceira e oitava semana de gravidez e que aumentava com a maior proximidade da residência à lavoura.

Um estudo realizado em trabalhadoras na Índia expostas a vários agrotóxicos, entre eles a parationa metílica, foram observadas ocorrências de aborto, óbito neonatal e malformação congênita (KUMAR, 2004).

## **ESTUDO 1**

**ANO: 1992**

**Espécie:** Camundongos (Charles River CD-1)

**Número de animais:** 180 ratos da geração F<sub>0</sub> (60♂ e 120♀) e 180 geração F<sub>1</sub> (60♂ e 120♀).

**Doses:** 0; 0,5; 5,0; 25 ppm

**Via:** Oral (dieta)

**Tempo de exposição:** Geração F<sub>0</sub> - 14 semanas antes e durante o acasalamento, gestação e período de lactação. Todos os animais da geração F<sub>0</sub> foram sacrificados antes do desmame da geração F<sub>1</sub>. Geração F<sub>1</sub> - 18 semanas antes e durante o acasalamento, gestação e período de lactação. Todos os animais da geração F<sub>1</sub> foram sacrificados no desmame.

**Concentração do ingrediente ativo (pureza):** 93,65%

Uma fêmea da geração F<sub>1</sub>, tratada com a maior dose, foi encontrada morta 127º dia do teste (5º dia de gestação). As fêmeas que receberam a maior dose exibiram redução do peso corpóreo quando comparado ao grupo controle, nos dias 4, 14 e 21 do período de lactação.

A média do peso dos filhotes F<sub>1</sub> foi comparável ao grupo controle ao nascimento e no dia 4 de lactação. Entretanto, no dia 21 de lactação o peso médio dos filhotes machos foi levemente reduzido na dose intermediária (7,6%) e maior dose (10,4%) e nos filhotes fêmeas cuja mãe recebeu a maior dose (10,7%). O diretor do estudo conclui que essas reduções não foram estatisticamente relevantes.

A média do peso corpóreo nas doses intermediárias e maior foi levemente menor que o grupo controle durante o período pré-acasalamento. Essas diferenças entre o controle são consistentes com o achado de redução da média do peso corpóreo dos filhotes no 21º dia de lactação, mas foi dose relacionada e estatisticamente significativa apenas nas fêmeas tratadas com a maior dose.

A média do peso corpóreo materno durante o período de gestação e lactação foi levemente menor nas doses intermediária e maior em relação ao controle (-3% a -6%) durante a gestação e período de lactação (-4% a -12%).

Nos dias 14 e 21 de lactação o peso corpóreo das mães foi estatisticamente reduzido quando comparados ao controle. O ganho de peso corpóreo (dias 0 – 21) foi levemente reduzido nas fêmeas na menor dose, -11%, na dose intermediária, - 26%, e significativamente reduzido na maior dose, - 137%.

A sobrevivência dos filhotes foi levemente, mas significativamente, reduzido no grupo tratado com a maior dose durante os primeiros 4 dias de lactação. Essa redução na sobrevivência foi atribuída à morte de 6 dos 11 filhotes de uma ninhada.

Entre os adultos da geração F<sub>1</sub> as lesões microscópicas mais comuns ocorreram nos pulmões, rins e fígado. Essas lesões foram encontradas tanto nos animais tratados como nos não tratados. Um pequeno número de neoplasmas benignos foram encontrados: dois machos tratados com a maior dose e uma fêmea da dose intermediária apresentaram adenoma no córtex da adrenal. Adenomas na adrenal não foram encontrados no grupo controle. Outros tipos de neoplasmas incluem: adenoma da glândula pituitária em uma fêmea tratada com a dose intermediária, nódulo neoplásico no fígado de um macho tratado com a dose intermediária e papiloma em células escamosas cutâneas em uma fêmea do grupo controle.

Em outros estudos experimentais realizados com animais de laboratório sugeriram que a fase inicial do desenvolvimento pós-natal pode tornar os indivíduos jovens (incluindo as crianças) mais vulneráveis aos efeitos dos OP. Há indícios claros de que a exposição contínua de animais ainda em fase de desenvolvimento a baixas doses de OP pode afetar adversamente o crescimento e a maturação neurocomportamental (ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; COSTA, 2006).

Vários estudos demonstraram efeitos prejudiciais da exposição à parationa metilica sobre os órgãos reprodutivos de fêmeas e machos. Em estudos experimentais foram observadas alterações na função reprodutiva de ratas com mudanças no ciclo estral (SORTUR; KALIWAL, 1992; DHONDUP; KALIWAL, 1997). Em ratos machos alterações na contagem e na morfologia de espermatozoides foram observados em diversos estudos (NARAYANA et al, 2006; MATHEW et al, 1992; NARAYANA, 2005 com repercussões no sistema reprodutivo. Em aves machos (MAITRA; MITRA, 2008) e fêmeas (RATTNER et al, 1982) após a exposição à organofosforados foram observadas alterações no sistema reprodutivo.

Em um estudo de toxicidade reprodutiva com ratas Wistar fêmeas hemicastradas foram expostas a 2,5, 3,5, 4,0 e 5,0 mg/kg de parationa metilica durante 15 dias consecutivos. Diariamente, o esfregaço vaginal e o peso corporal foram registrados, e as ratas foram sacrificadas no dia 16. Os ovários, adrenais, fígado, rins e útero foram removidos e pesados, e o ovário de cada animal foi seccionado e corado para posterior estudo histológico. Os grupos tratados com 2,5 e 3,5 mg/kg de parationa metilica não apresentaram alterações no peso do ovário com 48 e 42% de hipertrofia, respectivamente, e também não apresentaram alterações nos folículos atreticos e saudáveis quando comparado com o grupo controle hemicastrado exposto ao óleo. No entanto, o tratamento com 4,0 e 5,0 mg/kg de parationa metilica resultou em diminuição significativa no ganho de peso ovariano com 13 e 8% hipertrofiado, respectivamente, redução significativa no número de folículos saudáveis, e nenhuma alteração nos folículos atreticos. O número de ciclos estrais e a duração do ciclo estral estavam significativamente afetados nos grupos expostos a 3,5, 4,0 e 5,0 mg/kg quando comparado aos grupos controles. A alteração do ciclo estral com prolongado diestro nas ratas hemicastradas expostas a parationa metilica pode ter ocorrido devido ao crescimento retardado do ovário e do útero na maior dose, e também pode ser devido a redução na síntese de esteróides nos ovários, causando um desequilíbrio da razão estrogênio:progesterona. Esses efeitos corroboram com os resultados encontrados nos estudos de desregulação endócrina da parationa metilica (DHONDUP; KALIWAL, 1997).

Outro estudo foi realizado para avaliar os efeitos adversos da parationa metilica sobre o ciclo estral (período de cruzamento das fêmeas) e sobre o desempenho reprodutiva das fêmeas. Ratas albinas foram expostas a 1,5, 2,5 e 3,0 mg/kg parationa metilica durante 15 dias, por via intraperitoneal (SORTUR et al, 1999). Os resultados desse estudo mostraram que apesar de não ocorrer efeitos sobre índices reprodutivos, tais como índice de gestação, parto, fetos vivos e viabilidade, com exceção do índice de viabilidade na maior dose, alterações significativas na duração do ciclo estral, duração do proestro e diestro foram observadas nos grupos expostos a 2,5 e 3,0 mg/kg (SORTUR et al, 1999).

Um estudo da placenta de ratas expostas a 0,0; 1,0; 1,5 ou 2,0 mg/kg de parationa metilica apresentou resultados prejudiciais (LEVARIO-CARRILO et al, 2004). A exposição à parationa metilica resultou no aparecimento de células gigantes trofoblásticas mostrando degeneração significativa ou morfologia normal com muitos vacúolos fagossomicos contendo células debris que podem ser células mortas da interface placenta-maternal. Outros resultados incluem fibrose e hemorragia da decídua, células deciduais com núcleo picnótico e citoplasma acidófilo e congestão vascular no labirinto (LEVARIO-CARRILO et al, 2004).

Os efeitos genotóxicos, citotóxicos e sobre as células germinativas masculinas e sua possível relação com o nível de ácido ascórbico testicular foram avaliados em um estudo realizado com ratos *Wistar* adultos. Os efeitos encontrados foram diminuição do

número de espermatozóides nas doses de 0,75, 1 e 1,5 mg/kg (via i.p.), aumento no número de espermatozóides morfológicamente anormais nas dose de 0,5, 0,75, 1 e 1,5 mg/kg e redução no índice de lactação na dose de 1mg/kg (NARAYANA, 2005). O presente estudo sugere que a PM é um agente genotóxico e citotóxico fraco em ratos e que esses efeitos está bem correlacionado com a diminuição do nível de ácido ascórbico nos testículos.

Em outro estudo realizado para avaliar se a parationa metilica induz dano citotóxico e atrofia testicular em ratos *Wistar* adultos os seguintes efeitos foram observados: diminuição do peso dos testículos e dos níveis de LH, e aumento nos níveis de testosterona (0,75, 1,5 e 3,5 mg/kg), aumento de danos no epitélio seminífero e atrofia testicular (0,5, 1 e 3,5 mg/kg), diminuição da contagem de espermátides, do diâmetro dos túbulos seminíferos e da altura do epitélio (0,75, 1,5, 1,75 e 3,5 mg/kg). Os resultados desse estudo indicam que a parationa metilica exerce efeitos tóxicos reprodutivos sobre os ratos machos, o que causa danos testiculares significativos. É interessante notar, que mais uma vez, os resultados encontrados nos estudos de toxicidade reprodutiva (diminuição dos níveis de LH e testosterona) estão indiretamente relacionados a desregulação endócrina (NARAYANA, et al, 2006).

Um estudo de toxicidade foi realizado para investigar o mecanismo de formação do simplasto e as alterações bioquímicas que ocorrem nos testículos após exposição à parationa metilica. Ratos *Wistar* adultos (5/dose/tempo de amostra) foram expostos a parationa metilica e avaliados de acordo com os seguintes experimentos. Experimento 1: 0, 0,75 ou 1,5 mg/kg via por 25 dias e experimento 2: 0 ou 3,5mg/kg p.o. por 25 dias e os animais foram sacrificados no 17º após a última exposição. A parationa metilica induziu alterações estruturais nos testículos, o que está de acordo com os estudos anteriores. Os simplastos da células (simplasto é o conjunto: membrana celular + tudo o que tem dentro da membrana) são formados devido a fusão das espermátides redondas, foram encontrados nos testículos no experimento 1. A fusão celular e a formação de células gigantes multinucleadas foi o motivo da atrofia tubular induzida pela parationa metilica. O número de túbulos com simplastos teve um aumento dose-dependente no experimento 1. Concluindo, a parationa metilica é uma indutora da formação de simplastos pela fusão celular de espermátides, que é um processo envolvendo a atrofia tubular e também promove alterações bioquímicas nos testículos (NARAYANA, et al, 2007).

Piña-Guzmán *et al* (2006) avaliaram os efeitos da PM sobre o DNA espermático, explorando o estágio da espermatogênese mais sensível e a relação com o estresse oxidativo em camundongos machos. Nesse estudo foram observados alterações na cromatina e dano ao DNA. Esses dados sugerem que o estresse oxidativo está relacionado a alterações sobre a integridade do DNA espermático e células em meiose e maturação epididimal (como na tabela 7).

### **Estudos multigeração de toxicidade reprodutiva**

Em um estudo de multigeração, ratos foram expostos a 0, 2, 10 ou 50 ppm de PM na dieta e efeitos adversos foram observados nos animais expostos a dose de 10 ppm (0,5mg/kg). O NOAEL foi fixado em 2 ppm (0,1mg/kg). Em outro estudo de multigeração, no qual os níveis de doses administrados na dieta foram 0,0; 0,5; 5,0 ou 25 ppm, foi observado diminuição do peso corporal materno durante o período de lactação na concentração de 25 ppm. O NOAEL foi fixado em 5 ppm (0,25 mg/kg).

Em conjunto esses dados indicam que a parationa metilica altera a qualidade do semen, o DNA e a cromatina espermática em diferentes estágios da espermatogênese, sugerindo efeito genotóxico sobre os espermatozóides, e que a alteração dos níveis de



hormônios (LH e testosterona) pode estar associada a um potencial de desregulação endócrina da paratirona metílica.

**Tabela 7:** Resumo dos estudos de toxicidade reprodutiva e sobre o desenvolvimento

Estudo/ Espécie/Número	Período de exposição/Via	Dose (mg/kg peso corporal/dia)	Efeitos	NOAEL	Referência
Desenvolvimento / ratos Wistar HAN / NI	Dias 6-15 de gestação / gavagem	0, 0,3, 1,0 ou 3,0 mg/kg/dia	<b>3,0 mg/kg:</b> - 5 mortes e sinais clínicos de toxicidade incluindo sonolência, ataxia e dispnéia. - Aumento das perdas pós-implantação e diminuição da ingestão de alimentos, peso corporal e ganho de peso corporal - diminuição da atividade da colinesterase plasmática e eritrocitária - aumento da frequência de retardo na ossificação e redução do peso corporal nos fetos expostos <i>in utero</i> .	Tox Mat e para desenvolvimento: <b>1 mg/kg</b>	Becker <i>et al.</i> , 1987 <i>apud</i> IPCS, 1995
Desenvolvimento / ratos / NI	Dias 6-15 de gestação / gavagem	0, 0,1, 0,3 ou 1 mg/kg/dia	<b>1 mg/kg</b> - diminuição do ganho de peso materno na gestação; diminuição do peso fetal; aumento da frequência de fetos atrofiados	<b>0,3 mg/kg</b>	Machemer, 1977 <i>apud</i> IPCS, 1995
Desenvolvimento /Coelhos Himalaia/15animais por grupo	Dia 6-18 de gestação / gavagem (cesárea no dia 29 de gestação)	0, 0,3, 1, ou 3 mg/kg	<b>3 mg/kg</b> Inibição das atividades colinesterásicas plasmáticas e eritrocitárias maternas.	Tox Mat: <b>1 mg/kg/dia</b> Tox Desenvol: <b>3 mg/kg/dia</b>	Renhof, 1984 <i>apud</i> IPCS, 1995
Multigeração / ratos Wistar / 10 machos e 20 fêmeas	Exposição nas gerações F <sub>0</sub> , F <sub>1</sub> e F <sub>2</sub> / na dieta	0, 2, 10, ou 50 ppm	<b>50 ppm</b> - convulsões nos pais F1b - diminuição do crescimento em todas as gerações - efeitos adversos sobre o peso ao nascimento, o tamanho da ninhada e a viabilidade e crescimento dos filhotes <b>10 ppm</b> - diminuição da fertilidade e da sobrevivência dos filhotes nas gerações F1 e F2	<b>2 ppm (0,1 mg/kg)</b>	Löser & Eiben, 1982 <i>apud</i> IPCS, 1995

Duas gerações / Sprague-Dawley / 15 machos e 30 fêmeas	14 semanas antes do acasalamento de F0 e 18 semanas antes do acasalamento F1, continuando na gestação e desmame / na dieta	0, 0,5, 5, ou 25 ppm	<b>25 ppm</b> - redução do peso corporal das fêmeas em ambas as gerações durante o período de lactação	Tox dos pais: <b>5ppm (0,25mg/kg)</b> Tox Reprodutiva: <b>25 ppm (1,25 mg/kg)</b>	Daly 1982 <i>apud</i> IPCS, 1995
--	--	----------------------	---	--	----------------------------------

NI: não informado. Adaptado do IPCS, 1995

#### 4.5.3 Estudos de toxicidade da PM para o desenvolvimento

Dois estudos de toxicidade sobre o desenvolvimento foram conduzidos em ratos. No primeiro estudo, os animais receberam parationa metilica por gavagem nas doses de 0,0; 0,3; 1,0 ou 3,0 mg/kg/dia. O NOAEL para toxicidade materna e para o desenvolvimento foi fixado em 1 mg/kg/dia baseado no aumento no número de mortes, ataxia e dispnéia nas mães e retardo na ossificação dos fetos. Em outro estudo, o NOAEL para toxicidade materna e para o desenvolvimento foi fixado em 0,3 mg/kg/dia baseado na diminuição significativa do peso corporal materno durante a gestação e no aumento no número de fetos atrofiados na dose de 1 mg/kg. No estudo de toxicidade sobre o desenvolvimento realizado em coelhos, foi observado diminuição na atividade colinesterásica eritrocitária e plasmática das mães expostas a 3 mg/kg/dia via gavagem. O NOAEL para toxicidade materna foi fixado em 1 mg/kg/dia e para toxicidade sobre o desenvolvimento foi fixado na dose de 3 mg/kg (Tabela 7).

É importante ressaltar que um estudo realizado para avaliar a transferência placentária e a farmacocinética de ratos expostos a uma dose única da parationa metilica (ABU-QARE et al, 2000) registrou que a placenta é uma barreira limitada contra a permeabilidade da parationa metilica. Portanto, os efeitos (atrofia e retardo na ossificação) encontrados em fetos expostos *in utero* a parationa metilica dos estudos citados acima corroboram com esse resultado.

A toxicidade reprodutiva da parationa metilica também foi avaliada em codornas (*Japanese quail*). Os animais foram expostos à dieta contendo 0, 14, 20, 28 ou 40 ppm de parationa metilica durante o período de produção de ovos. Foi observada redução dose relacionada do peso corporal, produção de ovos, e peso dos ovos, bem como na dureza e espessura da casca do ovo (SOLECKI et al, 1996).

Em conclusão, a parationa metilica pode ser caracterizada como desregulador endócrino já que provoca diversos efeitos adversos no sistema endócrino como descrito nos estudos aportados na ANVISA e nos encontrados na literatura científica. A parationa metilica mostrou ter atividade estrogênica *in vitro* em sistemas com maior capacidade de biotransformação (PETIT et al, 1997). Também em estudos *in vitro* a parationa metilica induziu a atividade da enzima aromatase, levando a maior produção de estrógenos (LAVILLE et al, 2006). Esses dois efeitos podem levar a desfechos como desenvolvimento de caracteres femininos em indivíduos do sexo masculino, diminuição da produção espermática e infertilidade.

Outro efeito de merecido destaque é a diminuição da produção de insulina em ratos tratados com parationa metilica (LUKASZEWICZ-HUSSAIN et al, 1985). Em condições de hipoinsulinemia, diversos efeitos graves são desencadeados não só prejudicando a qualidade de vida do indivíduo, mas podendo levar à morte (FORD et al, 2005; LEE et al, 2008).

#### 4.6 Imunotoxicidade

Alterações histopatológicas de tecidos e órgãos do sistema imunológico influenciam na maturação e nas subpopulações de linfócitos e nas alterações funcionais das células imunocompetentes foram descritas em diversos estudos (CASALE et al, 1993; SELGRADE et al, 1984; BARNETT et al, 1980; VOCCIA et al, 1999).

Os agrotóxicos organofosforados desregulam o sistema imune e afetam mecanismos imunológicos específicos (humorais) e não específicos (celulares). A exposição crônica a baixas doses durante períodos prolongados pode reduzir as respostas imunes humorais. Barnett, 1994 apud Repetto; Baliga, 1996 demonstrou que

os agrotóxicos também reduzem a resistência do hospedeiro à infecção viral e bacteriana em animais. Essas alterações estão descritas no quadro 2.

Os compostos organofosforados tem um efeito imunossupressor sobre os sistemas celulares dos seres humanos e dos animais (NEWCOMBE, 1992).

Estudos realizados por Rodgers (1985a, 1985b, 1985c, 1986, 1987) focaram o impacto do metabólito trialkilfosforotioato O,O,S-trimetilfosforotioato (OOS-TMP) no sistema imunológico de roedores. A OOS-TMP apresenta vários efeitos imunitóxicos. Foi observada uma resposta dose-dependente para supressão da imunidade humoral e da incapacidade de gerar citotoxicidade em linfócitos T. Também foram encontradas alterações de macrófagos e atividade esterásica que contribuíram para o surgimento de doenças pulmonares em ratos.

Em outro estudo, os efeitos imunitóxicos da OOS-TMP incluíram a supressão da produção de anticorpos e de linfócitos T citotóxicos e uma redução na apresentação de antígenos por parte dos macrófagos. Investigações indicam que a redução na apresentação de antígenos e na atividade dos linfócitos T citotóxicos são produzidos porque os compostos organofosforados inibem a atividade de enzimas, como diversas esterases associadas a monócitos, células exterminadoras naturais e outras células imunocompetentes (NEWCOMBE, 1992).

**Quadro 2:** Estudos para avaliação da imunotoxicidade de organofosforados

Desfecho observado	OP	Espécie (via de exposição)	Direção do efeito
Peso do timo	diazinon, EPN, fenitrotiona, fentiona, parationa metílica, dimetoato	rato (oral e SC), camundongo (SC), coelho (oral)	↓
Peso do timo	diclorvos, dimetoato	rato (oral)	↑
Peso do baço	azinfós-metilo, diclorvos, malation, parationa, dimetoato	rato (oral), camundongo (oral, SC)	↓
Proliferação linfócitos B	malation	camundongo (oral)	↑
Proliferação linfócitos T	carbofenotona, crufomato, diclorvos, malation, parationa metílica, mevinfos triclorfom	homem, camundongo, carpa ( <i>in vitro</i> )	↓
Proliferação linfócitos T	Malation	camundongo ( <i>in vitro</i> )	↑
Atividade de macrófagos, neutrófilos e células EN	diclorvos, naled, tetracorvinfos, triclorfom	homem ( <i>in vitro</i> ), carpa (oral e dérmica)	↓
Quimiotaxia de neutrófilos	crufomato, parationa metílica	homem ( <i>in vitro</i> )	↓
Contagem de linfócitos	dimetoato, malation, forato	camundongo (SC)	↓
Resposta secundária de anticorpos	diazinon, diclorvos, dimetoato, EPN, fenitrotiona, fentiona,3 glifosina, malation, parationa metílica,	camundongo (oral e SC), coelho e roedor (oral), peixe (oral, dérmica)	↓

	parationa		
Hipersensibilidade	diazinon, EPN, fenitrothion, fention,	camundongo (oral)	↓
Fagocitose de macrófagos	diazinon, EPN, fenitrothion, fention, triclorfom	camundongo e rato (oral), carpa (dérmica)	↓
Resistência do hospedeiro (patógenos)	parationa metílica, glifosina e parationa	camundongo (oral)	↓
Resistência do hospedeiro (células tumorais)	diazinon, EPN, fenitrothion, fention, triclorfom	camundongo (oral)	↓

SC: subcutânea

**Fonte:** Modificado de REPETTO; BALIGA, 1996

Hermanowicz e Kossman (1984) examinaram a função de neutrófilos e a prevalência de doenças respiratórias infecciosas em trabalhadores expostos ocupacionalmente a agrotóxicos organofosforados em estudos epidemiológicos do tipo caso-controle. A inibição de colinesterase plasmática e eritrocitária foi correlacionada com diferentes níveis de exposição. Também foi observada uma correlação positiva entre a incidência de infecção e a amplitude da exposição.

Os estudos apresentados no quadro 2 revelam que a exposição aos organofosforados reduz significativamente a resistência às infecções virais, bacterianas e parasitárias e promove o crescimento de tumores em muitas espécies animais.

Nos estudos aportados na ANVISA a parationa metílica levou a diminuição das células da medula óssea e de células sanguíneas, conforme descrito nos estudos 4 e 7, onde ratos e cães foram tratados por 90 dias via oral.

A parationa metílica causou a diminuição da proliferação de linfócitos T induzida por mitógenos (fitohemaglutinina) (PARK; LEE, 1978; LEE; MOSCATI; PARK, 1979) e a inibição da quimiotaxia de neutrófilos humanos (LEE, MOSCATI; PARK 1979).

Sangue humano foi utilizado para avaliar a resposta proliferativa de células mononucleares periféricas sanguíneas tratadas com um mitógeno (fitohemaglutinina) e expostas à parationa metílica por 24 horas. Nesse estudo foi observada a redução da proliferação celular e da secreção de IL-2 pela parationa metílica (LIMA; VEGA, 2005).

A quantificação de células formadoras de placa (PFC) é um ensaio preconizado para determinar o potencial imunossupressor de uma substância química. Nesse teste é avaliado o potencial de indução de anticorpos após a imunização com antígenos, geralmente eritrócitos de ovelha (DESCOTES, 1994). O aumento de PFC do baço foi observado em camundongos que receberam uma única dose (metade da DL50) de parationa metílica três dias antes da imunização. Embora tenha sido observado o aumento inicial do número de células, não foi observado aumento do título de anticorpos, mesmo sete dias após a imunização. O tratamento com uma dose 40 vezes menor que a DL50 também provocou o aumento do número de células do baço (PFC) e manteve inalterado o de anticorpos (INSTITORIS et al, 1992).

A exposição de camundongos a 1 ou 3 mg/kg/dia de parationa metílica aumentou a atividade das células exterminadoras naturais no baço e diminuiu a reposta de anticorpos a eritrócitos de outra espécie animal (CRITTENDEN et al, 1998).

A ativação da IL-2, que se mostrou diminuída após a exposição de células à parationa metílica, ocorre através de mecanismos de fosforilação que podem ser o alvo da toxicidade desse e de outros OP. Isso indica que a parationa metílica pode interferir também com diversas outras vias de ativação que são reguladas por reações de fosforilação (LIMA; VEGA, 2005) e que são cruciais para a manutenção da homeostase.

Os resultados encontrados nos estudos avaliando parâmetros imunológicos após a exposição ao OP parationa metílica indicam que ele é imunossupressor de diversas populações de células imunocompetentes e inibidor da formação de anticorpos. Dessa maneira, a resposta imunológica inata e adquirida (mediada por anticorpos) pode ser prejudicada e, conseqüentemente, indivíduos expostos a parationa metílica poderiam ser mais susceptíveis a infecções por patógenos, ao desenvolvimento de cânceres ou ainda ao desenvolvimento de diversas alterações imunológicas como reações autoimunes.

## **4.7 Neurotoxicidade**

### **4.7.1 Mecanismos de ação**

Os organofosforados agem inibindo a atividade da acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável por mediar a hidrólise da acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina. Através da fosforilação da enzima, os organofosforados bloqueiam a atividade catalítica da AChE, interrompendo a transmissão do impulso nervoso nas sinapses colinérgicas do sistema nervoso central (SNC), sistema nervoso autônomo (SNA) e da junção neuromuscular. A inativação da AChE provoca uma hiper-estimulação colinérgica pelo acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica (TAFURI; ROBERTS, 1987; PRUETT et al, 1992; KECIK et al, 1993; BEACH et al, 1996; SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999; RAY; RICHARDS, 2001; MOSER et al, 2004; COSTA, 2006; KELLAR, 2006; ALON et al, 2008; JAMESON; SEIDLER; SLOTKIN, 2007; NARAVANENI; JAMIL, 2007; SLOTKIN; SEIDLER; FUMAGALLI, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008; LAETZ et al, 2009).

Tanto a parationa metílica quanto o seu metabólito metil paraoxon agem inibindo a atividade da enzima acetilcolinesterase, provocando uma hiper-estimulação colinérgica pelo acúmulo de acetilcolina nas terminações nervosas (ABU-QARE et al, 2000; KRAMER; HO, 2002; LIU; CHAKRABORTI; POPE, 2002; GARCIA et al, 2003; MA et al, 2003; TANG; CARR; CHAMBERS, 2003; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005). O metil paraoxon é um agente anticolinesterásico muito mais potente que a parationa metílica, composto que o originou (CARR et al, 2002; MA et al, 2003; TANG; CARR; CHAMBERS, 2003).

O modo de ação dos organofosforados é semelhante tanto em invertebrados quanto em vertebrados. Os organofosforados inibem de forma similar tanto a AChE dos organismos-alvo (insetos/ácaros) como a de espécies não alvo (incluindo o homem), exibindo baixa seletividade quanto à ação tóxica. Esta característica toxicodinâmica, aliada a certas propriedades toxicocinéticas, torna os organofosforados agrotóxicos perigosos em termos de exposições ocupacionais, acidentais e intencionais. (CARVALHO, 1993; BOUCHARD et al, 1996; SHEETS et al, 1997; RAY; RICHARDS, 2001).

Sabe-se também que os efeitos tóxicos dos compostos organofosforados ocorrem não somente através da inibição da acetilcolinesterase, podendo ser causados por

diferentes mecanismos que interrompem a replicação e diferenciação de células nervosas (RAY; RICHARDS, 2001; SLOTKIN et al, 2006; COSTA, 2006; SLOTKIN et al, 2007; SLOTKIN; SEIDLER, 2007; SLOTKIN et al, 2008a; SLOTKIN et al, 2008b). Os possíveis mecanismos que induzem efeitos tóxicos incluem reduções no número de receptores muscarínicos, na síntese de DNA e no tamanho do cérebro em recém-nascidos (ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999).

Manifestações tardias de neurotoxicidade podem ocorrer após a exposição à parationa metílica, e estão ligadas à inibição de uma carboxiesterase neuronal, a esterase neuropática alvo (NTE - neuropathy target esterase) (SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008). O mecanismo de inibição da NTE pelos compostos organofosforados envolve a fosforilação da NTE seguida pela perda do potencial de reativação da enzima, onde a clivagem de um grupo ligado ao fósforo resulta em um resíduo fosforil ionizado. Acredita-se que esse resíduo fosforil liga-se à membrana neural, causando a neuropatia tardia (LOTTI et al, 1993). A inibição dessa enzima presente no sistema nervoso pode resultar em danos permanentes (JOHNSON, 1990; MOSER et al, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005).

A parationa metílica também pode inibir a atividade da calmodulina, uma proteína ativadora cálcio-dependente que regula diversos processos dependentes do cálcio. A parationa metílica provoca alterações na conformação desta proteína, encontrada majoritariamente no cérebro, provocando neurotoxicidade (PALA et al, 1991; NAYEEMUNNISA; BEGUM, 1992).

A maioria dos efeitos sistêmicos da parationa metílica e de seus metabólitos está relacionada com a sua ação no sistema nervoso, ou são decorrentes dessa ação primária (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005). Estudos em humanos e animais demonstram que o sistema nervoso é o principal alvo da toxicidade induzida pela parationa metílica, independente da via de exposição (YAMAMOTO et al, 1982; DEAN et al, 1984; GUPTA et al, 1985; YOUSSEF et al, 1987; ROBERTS et al, 1988; FAZEKAS apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; INSTITORIS et al, 2004).

A exposição crônica a agrotóxicos organofosforados, ainda que em baixas doses, também pode produzir efeitos neurotóxicos (RAY; RICHARDS, 2001; SLOTKIN et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008; SLOTKIN et al, 2008a). A exposição a baixas doses de organofosforados durante o desenvolvimento fetal também pode produzir neurotoxicidade (HARNLY et al, 2005; SLOTKIN et al, 2006; JAMESON; SEIDLER; SLOTKIN et al, 2007; SLOTKIN; SEIDLER, 2007).

Neonatos, crianças e adolescentes são mais vulneráveis do que adultos devido a sua menor capacidade em metabolizar compostos organofosforados, uma vez que seus organismos estão em fase de desenvolvimento (LANDRIGAN et al, 1999; HARNLY et al, 2005; HOLLAND et al, 2006; SLOTKIN; LEVIN; SEIDLER, 2006; VIDAIR, 2004; CALDAS; BOON, TRESSOU, 2006; ESKENAZI et al, 2007; ESKENAZI et al, 2008; THOMPSON et al, 2008). Estudos demonstram que a exposição contínua de animais ainda em fase de desenvolvimento a baixas doses de organofosforados pode afetar adversamente o crescimento e a maturação neurocomportamental (AHLBOM; FREDRIKSSON; ERIKSSON, 1995; COSTA, 2006; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999). O fato da exposição aos organofosforados provocar alterações durante o desenvolvimento cerebral, mesmo sem haver inibição da AChE, comprova esse argumento, reforçando ainda a incapacidade desse marcador para a avaliação da



exposição ou dos efeitos relacionados à neurotoxicidade (SLOTKIN et al, 2006; SLOTKIN et al, 2008a).

Os danos neurológicos induzidos por organofosforados podem durar muito tempo, podendo persistir por mais de dez anos após o desaparecimento dos sintomas de intoxicação aguda, o que sugere dano residual permanente (KAMEL; HOPPIN, 2004; KAMEL et al, 2005). Mesmo exposições moderadas podem resultar em sequelas neurológicas de longo prazo (WESSELING et al, 2002; KAMEL; HOPPIN, 2004).

#### **4.7.2 Manifestações clínicas**

Por serem inibidores da acetilcolinesterase os organofosforados podem causar variantes clínicas de envenenamento no homem e em animais: toxicidade aguda; síndrome intermediária e polineuropatia retardada. Os efeitos decorrentes da exposição aos organofosforados variam de acordo com a propriedade química do produto e com os fatores e condicionantes que podem modificar a sua toxicidade, entre elas a dose, duração da exposição, via de absorção, o órgão atingido, fatores sócio-econômicos e culturais, e condições ambientais (RAY, 1998).

O bloqueio irreversível da AChE pelos organofosforados desencadeia um quadro neurotóxico agudo em decorrência da hiper-estimulação colinérgica (KAUSHIK; ROSENFELD; SULTATOS, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008). O acúmulo de organofosforados no organismo devido à inibição da atividade colinesterásica provoca efeitos subagudos e crônicos. A natureza lipossolúvel dos organofosforados permite sua acumulação nos tecidos adiposos, o que resulta em uma eliminação mais lenta desses compostos no organismo, prolongando os efeitos clínicos (KECIK et al, 1993).

##### **4.7.2.1 Neurotoxicidade aguda – Síndrome colinérgica**

A inibição da AChE por compostos organofosforados desencadeia um quadro neurotóxico agudo conhecido como síndrome colinérgica. Essa síndrome é caracterizada por uma ampla gama de sinais e sintomas resultantes da exacerbação da função colinérgica (KAUSHIK; ROSENFELD; SULTATOS, 2007; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008).

A intoxicação aguda por anticolinesterases produz uma mistura complexa de sinais muscarínicos e nicotínicos. Sinais e sintomas nicotínicos resultam da acumulação da acetilcolina nas terminações nervosas da musculatura esquelética e gânglios autônomos. Os receptores muscarínicos para a acetilcolina são encontrados primariamente nos músculos lisos, coração e glândulas exócrinas, e suas manifestações clínicas ocorrem nos sistemas circulatório, ocular, urinário e nos aparelhos digestivo e respiratório (CARVALHO, 1993; STOKES et al, 1995; BEACH et al, 1996; KELLAR, 2006). As manifestações clínicas mais comuns decorrentes da intoxicação aguda por parationa metílica estão descritas no quadro 3.

**Quadro 3:** Manifestações clínicas da intoxicação aguda por parationa metílica.

LOCAL	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	REFERÊNCIA
Sistema Nervoso Central	Dor de cabeça, tontura, distúrbios no sono, dificuldade de concentração, confusão mental, comprometimento da memória, ansiedade, agitação, convulsões, tremores, disartria, torpor, depressão respiratória, coma	Dean et al, 1984; EXTOXNET, 1994; Montoya-Cabrera et al, 1999 Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001; Fazekas apud Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001; McCann et al, 2002; Rubin et al, 2002a; Garcia et al, 2003; Edwards; Tchounwou, 2005
Efeitos Muscarínicos	Gastrointestinais: náusea, vômito, cólicas abdominais, diarreia, defecação involuntária	
	Respiratórias: sangramento nasal (quando inalada), dor torácica, rinorréia, broncorréia, dispnéia, broncoconstrição, edema pulmonar	
	Cardiovasculares: hipotensão, bradicardia	
	Oculares: perda de visão, miose	
	Sistema urinário: diurese frequente e involuntária	
	Glândulas exócrinas: salivação (sialorréia), sudorese excessiva, lacrimejamento	
Efeitos Nicotínicos	Contração muscular involuntária, câimbras, fraqueza, fasciculação dos músculos respiratórios e diafragma, podendo haver paralisia muscular dos músculos respiratórios	

A causa imediata de morte em intoxicações por organofosforados resulta de falência respiratória (DAVIES; EDDLESTON; BUCKLEY, 2008). A parationa metílica é extremamente tóxica, independente da via de exposição, podendo provocar morte por parada cardíaca e respiratória (EXTOXNET, 1994; UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, 1996; CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; GARCIA et al, 2003; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005). Contribuem para este fato a ação muscarínica de broncoconstrição e de aumento das secreções bronquiais, a ação nicotínica de paralisia dos músculos respiratórios e a ação do SNC de depressão e paralisia do centro respiratório (CARVALHO, 1993; PELEGRINO et al, 2006).

A intoxicação aguda por organofosforados tem grande importância epidemiológica para humanos e animais. Diversos casos de envenenamento por parationa metílica têm sido observados em humanos.

Dean et al (1984) descreveram efeitos neurológicos relacionados à redução dos níveis de acetilcolinesterase após exposição aguda a parationa metílica pelas vias inalatória, oral e dérmica. No estado de Mississippi (EUA), sete irmãos com idades entre 02-11 anos deram entrada na emergência com sinais e sintomas de letargia, aumento de salivação, secreção respiratória, miose, dor abdominal e diarreia. Duas crianças tiveram parada respiratória e duas, de 04 e 11 anos de idade, evoluíram para óbito em consequência da intoxicação provocada pela parationa metílica.

Montoya-Cabrera et al (1999) descreveram uma tentativa de suicídio pela ingestão de parationa metílica. Uma adolescente de 14 anos de idade apresentou quadro de intoxicação aguda com sintomas muscarínicos, nicotínicos e neurológicos, bem como redução de 88% da colinesterase sérica. Nove dias após o início dos sintomas a paciente desenvolveu uma síndrome extrapiramidal. Foram observados tremores, rigidez extrapiramidal e movimentos distônicos no pescoço e tronco.

Sinais e sintomas neurológicos foram observados em 26 casos fatais após ingestão intencional de parationa metílica (FAZEKAS apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001). Os pacientes apresentaram manifestações muscarínicas como broncoconstrição, broncorréia e bradicardia, com consequente edema pulmonar. A biópsia revelou lesões no endotélio vascular, coração, fígado, baço, rins e cérebro. Foram observados efeitos neurológicos, com redução significativa dos níveis de colinesterase plasmática. As mortes ocorreram entre 2 horas e 09 dias após a exposição à parationa metílica.

Sintomas neuropsiquiátricos foram observados em dois aplicadores de agrotóxicos expostos à parationa metílica e a outros agrotóxicos. Um dos aplicadores foi exposto a altos níveis de parationa metílica após um acidente onde ocorreu o extravazamento de um tanque contendo parationa metílica e outros agrotóxicos. Vários meses após o acidente, o indivíduo relatou tontura, ansiedade, alterações emocionais, agressividade com a família e amigos e incapacidade de realizar tarefas domésticas (DILLE; SMITH apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001).

Em uma investigação sobre o uso de parationa metílica como inseticida em residências em Chicago, EUA, McCann et al (2002) indentificaram 968 casas onde o produto foi aplicado. Indivíduos de 225 destas casas reportaram sintomas de intoxicação por organofosforado após a aplicação da parationa metílica. Os sintomas mais frequentes foram dor de cabeça (29,77%), náusea (18,22%), sintomas gripais (12%), vômito (10,22%), tontura (9,33%), erupções cutâneas (4%) e sintomas respiratórios (4%). Residentes de 23 casas reportaram o adoecimento ou morte de animais de estimação após a aplicação da parationa metílica em suas casas.

Rubin et al (2002a) investigaram os efeitos à saúde resultantes da aplicação indoor (ambiente confinado) de parationa metílica em 747 indivíduos residentes em 254 casas no estado de Ohio, EUA. O caso foi também descrito por Rubin et al (2002b) e Hill Jr. et al (2002). Durante um período de 5-7 anos os moradores de mais de 400 residências do condado de Lorain, Ohio, relataram a aplicação de parationa metílica como inseticida dentro de suas residências. Em 1994 as autoridades de saúde tomaram conhecimento do caso e conduziram investigações a fim de determinar a extensão dos danos provocados pela parationa metílica à saúde.

Questionários individuais revelaram que durante as duas semanas seguintes à aplicação da parationa metílica, os moradores reportaram dores de cabeça (30%), náusea (29%), insônia (28%), diarreia (26%), agitação (23%), dificuldade para respirar (21%), tontura (21%), cólicas abdominais (20%), transpiração excessiva (13%), perda de coordenação motora (11%), salivação excessiva (9%) e confusão mental (7%).

Níveis de para-nitrofenol mais elevados foram detectados na urina dos indivíduos que tiveram a parationa metflica aplicada em suas casas em até 06 meses antes da coleta das amostras. Chama atenção o fato de que indivíduos expostos pelo menos um ano antes da coleta da urina apresentaram níveis detectáveis de para-nitrofenol nas amostras coletadas. A análise das faixas etárias dos 626 indivíduos que tiveram amostra de urina coletada sugere que crianças e idosos apresentam maior risco de exposição por passarem mais tempo em suas residências e apresentarem comportamentos que favorecem o contato com o agrotóxico, como o fato de que crianças engatinham no chão onde o produto é aplicado.

Vinte e um indivíduos foram internados ou faleceram logo após a aplicação da parationa metflica em suas residências apresentando quadro clínico compatível com intoxicação por organofosforado. Os efeitos da exposição à parationa metflica também foram observados em animais. Em 35% das casas onde havia cães, gatos, peixes e pássaros houve morte dos animais de estimação após o uso do agrotóxico, e o relato dos sintomas apresentados pelos animais foi compatível com intoxicação induzida por parationa metflica. Rubin et al (2002a) concluem que os achados desse estudo subestimam o impacto e a dimensão dos danos provocados pela parationa metflica à saúde, uma vez que durante vários anos os serviços de saúde locais foram incapazes de relacionar os sintomas apresentados por pacientes que deram entrada nas unidades de saúde com o quadro clínico de envenenamento por organofosforado.

Ainda em Lohain, Ohio, um estudo do tipo caso-controle realizado por, investigou os óbitos por causas não definidas em 39 crianças com menos de 12 meses de idade entre os anos de 1990 e 1994, a fim de determinar se o óbito estava relacionado à exposição à parationa metflica. A análise dos casos sugere que crianças que residiam em casas onde a parationa metflica foi aplicada apresentaram um risco maior de morrer por causas não explicadas que crianças de casas onde o produto não foi aplicado. Esses achados relacionam exposição a organofosforados e morte infantil por causas não explicadas (EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005).

Além da maior suscetibilidade de crianças a organofosforados como a parationa metflica, a exposição, a baixas doses durante o desenvolvimento fetal pode levar a falhas na neuroquímica das sinapses colinérgicas (LIU; OLIVIER; POPE; 1999; TANG; CARR; CHAMBERS, 2003; GUO-ROSS et al, 2007) e efeitos na serotonina e na catecolamina (BASHA; BEGUM; NAYEEMUNNISA, 2001), podendo ter repercussões sistêmicas no feto capazes inclusive de levar à morte.

Rehner et al (2000) conduziram um estudo para analisar a contaminação por parationa metflica em 1800 casas e estabelecimentos comerciais no estado do Mississippi, EUA. O objetivo foi determinar se os indivíduos mais expostos à parationa metflica apresentavam mais sintomas de depressão do que a população geral. As entrevistas realizadas com o grupo estudado revelaram que os indivíduos que apresentavam mais sintomas de depressão haviam sido expostos à parationa metflica por um maior período de tempo.

Diversos estudos descrevem parkinsonismo em indivíduos após exposição aguda a agrotóxicos organofosforados (DAVIS; YESAVAGE; BERGER, 1978; BHATT; ELIAS; MANKODI, 1999; MÜLLER-VAHL; KOLBE; DENGLER, 1999; ARIMA et al, 2003; KAMEL; HOPPIN, 2004; HANCOCK et al, 2008). Apesar desse fato, esses estudos não foram capazes de discriminar especificamente se foi a parationa metflica ou outro agrotóxico organofosforado que levou ao desenvolvimento dos sintomas (KAMEL; HOPPIN, 2004).

Hancock e colaboradores (2008) estudaram 319 casos de Parkinson, comparando os pacientes desse grupo com 296 controles, composto por 252 parentes próximos aos

casos e os 44 restantes conjugues ou não parentes, a fim de determinar uma possível relação entre a exposição a agrotóxicos organofosforados e a doença de Parkinson. O estudo relacionou positivamente o uso de organofosforados à doença de Parkinson, uma vez que a doença estava fortemente relacionada à exposição aos agrotóxicos organofosforados.

Arima et al (2003) descreveram um caso de parkinsonismo após quadro severo de síndrome colinérgica por exposição a organofosforados em uma mulher de 81 anos.

Bhatt, Elias e Mankodi (1999) descreveram cinco casos onde os pacientes apresentaram parkinsonismo após exposição a agrotóxicos organofosforados, indicando que a síndrome representa um efeito tóxico da exposição a esses compostos.

Müller-Vahl, Kolbe e Dengler (1999) descreveram uma tentativa de suicídio, onde um homem de 56 anos ingeriu uma quantidade desconhecida de um agrotóxico organofosforado, desenvolvendo uma sintomatologia compatível com quadro de intoxicação aguda por organofosforado, seguida por parkinsonismo severo. O estudo levou à conclusão de que o parkinsonismo deve ser considerado uma seqüela de intoxicação aguda por organofosforados, mesmo após a reversão da síndrome colinérgica.

Em um estudo de caso, Davis, Yesavage e Berger (1978) relataram uma exposição ocupacional de um agricultor que aplicava agrotóxicos organofosforados em diferentes culturas com auxílio de avião. O paciente já havia apresentado inúmeros episódios de intoxicação aguda a organofosforados, estando cronicamente exposto a esses compostos. Tais achados levantaram a hipótese de relação entre o parkinsonismo e a exposição a organofosforados, onde a exposição ocupacional pode estar relacionada a um maior risco de desenvolvimento da doença.

Tais estudos fortalecem a evidência epidemiológica de que a exposição a agrotóxicos organofosforados deve ser considerada um fator de risco para a doença de Parkinson e o parkinsonismo.

#### **4.7.2.2 Síndrome intermediária**

Outra manifestação da intoxicação por organofosforados é a síndrome intermediária, descrita como uma complicação tardia em alguns casos de severa intoxicação aguda (SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; RAY; RICHARDS, 2001). Acredita-se que a síndrome intermediária seja resultado da dessensibilização dos receptores colinérgicos em virtude da persistência da acetilcolina na junção neuromuscular (KAMEL; HOPPIN, 2004; JAYAWARDANE et al, 2008).

Os sintomas aparecem entre 24 e 96 horas após desaparecimento do quadro colinérgico desencadeado pela parationa metílica e duram vários dias. Observações clínicas incluem fraqueza e paralisia muscular que afeta predominantemente os músculos respiratórios, podendo haver falência respiratória aguda. O comprometimento respiratório pode levar à morte (DE BLEECKER et al, 1992). A parationa metílica é um dos organofosforados que apresenta maior probabilidade de causar a síndrome intermediária (DE BLEECKER; VAN DEN NEUCKER; COLARDYN, 1993).

Em um estudo prospectivo, De Bleeker et al (1992) observou o desenvolvimento de síndrome intermediária em 06 pacientes expostos a partes iguais de parationa e paratina metílica. As manifestações clínicas incluíram parada respiratória, perda de força nos músculos flexores do pescoço e musculatura dos membros e diminuição dos reflexos. Os sintomas perduraram por vários dias ou semanas. A eletromiografia revelou interrupção da transmissão neuromuscular.

#### **4.7.2.3 Polineuropatia retardada**

A polineuropatia retardada induzida por organofosforados (OPIDP - organophosphate-induced delayed polyneuropathy) é uma neuropatia motora distal decorrente da exposição a alguns organofosforados e caracterizada pela degeneração de axônios com desmielinização secundária nos sistemas nervosos central e periférico (SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; KELLNER; SANBORN; WILSON, 2000; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008).

A indução da neuropatia tardia parece estar associada à inibição de uma carboxiesterase neuronal, a esterase neuropática alvo (NTE - neuropathy target esterase) (SHEETS et al, 1997; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; VIDAIR, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; DOHERTY, 2006; PELEGRINO et al, 2006; BJØRLING-POULSEN; ANDERSEN; GRANDJEAN, 2008). O mecanismo de inibição da NTE pelos compostos organofosforados envolve a fosforilação da NTE seguida pela perda do potencial de reativação da enzima, onde a clivagem de um grupo ligado ao fósforo resulta em um resíduo fosforil ionizado. Acredita-se que esse resíduo fosforil liga-se à membrana neural, causando a neuropatia tardia (LOTTI et al, 1993). A inibição dessa enzima presente no sistema nervoso pode resultar em danos permanentes (JOHNSON, 1990; MOSER et al, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005).

O quadro neurológico subsequente à inibição da NTE ocorre entre 1 e 4 semanas após uma exposição pontual a compostos organofosforados, quando os sintomas clássicos da síndrome colinérgica já diminuíram ou desapareceram (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; RAY, 1998; McCONNELL et al, 1999; LOTTI; MORETTO, 2005; PELEGRINO et al, 2006). Casos humanos dessa neuropatia têm sido observados majoritariamente como consequência de severa intoxicação aguda (RAY; RICHARDS, 2001).

Os sintomas clássicos da polineuropatia retardada incluem dor, formigamento de pés e mãos, seguido de perda da sensibilidade, fraqueza muscular progressiva, espasmos, hiperreflexia e ataxia que pode evoluir para uma paralisia flácida, estendendo-se para as extremidades dos membros superiores e inferiores, com perda da coordenação motora. Mesmo quando a lesão nos nervos periféricos se estabiliza, danos à medula espinhal podem persistir com quadros espásticos, ataxia ou quadriplegia. (SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; CARVALHO, 1993; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996; MOSER et al, 2004; LOTTI; MORETTO, 2005; PELEGRINO et al, 2006). A recuperação pode levar anos após o início dos sintomas, podendo haver dano residual permanente (SENANAYAKE; JOHNSON, 1982; SENANAYAKE; KARALLIEDE, 1987; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1996).

#### **4.7.2.4 Estudos experimentais de neurotoxicidade da parationa metilica**

Um grupo de ratos Sprague-Dawley foram tratados com 3 mg/kg/dia de parationa metilica (PM) de uma a três semanas para observar os efeitos neuroquímicos e sobre o comportamento após a administração repetida (SUN et al, 2003). Não foram observadas evidências que a exposição repetida a PM causou diminuição no ganho de peso corporal exceto no dia 7, com um leve atraso no crescimento observado no dia 10. O ganho de peso após 10 dias aumentou em razão estacionária. Tremores, irritação e lacrimejamento foram observados após exposição repetida a 3 mg/kg/dia (Sun et al, 2003). Os animais foram sacrificados e seus cérebros removidos para determinar os

níveis da atividade da acetilcolinesterase e a ligação de radioligantes, [3H]QNB (não seletivo), [3H]pirenzepina (M1 seletivo), e [3H]AF-DX384 (M2 seletivo) aos receptores muscarínicos. A medição da atividade AChE no cérebro indicou uma diminuição de 54 – 74% da atividade imediatamente a 1º e 3º semanas do tratamento. Esse experimento também demonstrou que a atividade acetilcolinesterase sanguínea diminuiu após injeções sucessivas até que a atividade mínima foi alcançada e mantida através do tratamento. A atividade mínima foi considerada como sendo 30% da atividade AChE do grupo controle. A exposição repetida a PM causou inibição prolongada da atividade da acetilcolinesterase (80%) e *down-regulation* dos receptores muscarínicos M1 e M2 (superior a 38%) em regiões do cérebro de ratos incluindo o córtex frontal, estriado, hipocampo e tálamo (SUN et al, 2003).

Efeitos sobre o comportamento associados à exposição a doses única e repetidas de PM foram estudados usando ratas fêmeas *Sprague-Dawley* (GALAL et al, 1975). Os ratos tratados com dose única de 50 mg/kg de PM apresentaram perda total da atividade locomotora espontânea e 90% de redução da coordenação neuromuscular e os animais tratados com 12,5 mg/kg PM mostraram redução significativa na atividade locomotora espontânea e coordenação neuromuscular dois dias após a exposição; no entanto a recuperação foi obtida 7 dias depois. A administração repetida a PM (1 mg/kg/dia) diminuiu a atividade locomotora espontânea e causou prejuízo na memória.

Ratos *Sprague-Dawley*, 10 fêmeas e 10 machos por grupo, receberam 0, 0,025, 7,5, 10 (somente machos) ou 15 (somente fêmeas) mg/kg de PM por via oral. Avaliações neuro-comportamentais e uma bateria de testes para a avaliação da atividade motora e funcional foram conduzidas em intervalos indicados durante o período de observação de 14 dias, e as atividades colinesterásicas plasmáticas e eritrocitárias foram determinadas em vários intervalos durante o estudo. A atividade da acetilcolinesterase foi medida em seis regiões do cérebro no momento do máximo efeito e no dia 14. A exposição a PM a doses intermediárias e altas causou efeitos transitórios sobre a atividade motora e funcional, induzindo lacrimejamento, salivação, tremores, fasciculações musculares, ataxia, fraqueza muscular, e miose; as atividades colinesterásicas plasmáticas, eritrocitária e cerebral estavam inibidas 67, 56, e 76% no momento do efeito máximo, respectivamente. Na maior dose testada nos machos observou-se uma diminuição do ganho de peso corporal quando comparado ao controle; esses resultados não foram observados nas fêmeas, e a média do peso corporal não estava afetada. Nos machos expostos a dose de 10 mg/kg PM, o número de sítios desmielinizados foi maior que o grupo controle. O NOAEL para toxicidade aguda foi fixado em 0,025 mg/kg (MINNEMA, 1994 apud PESTICIDES RESIDUES IN FOOD, 1995).

Galinhas foram expostas a 0 ou 250 mg/kg PM (95,8% pureza) por entubação gástrica para observar efeitos neurotóxicos; a dose testada excedeu a DL<sub>50</sub> de 215 mg/kg. Animais do grupo controle positivo receberam 600 mg/kg de fosfato de tri-ortocresol. Uma segunda dose foi administrada 21 dias após a primeira. Não foram observados sinais clínicos, e não havia lesões histopatológicas no cérebro, medula espinhal, ou tecido nervoso que indicassem neurotoxicidade tardia. Metade dos animais tratados morreu; as aves sobreviventes apresentaram sinais clínicos de toxicidade incluindo letargia, depressão, asa baixa, salivação, respiração rápida e pouco profunda e crista cianótica. As galinhas estavam recuperadas em um período de 7 dias (BEAVER et al., 1990 apud PESTICIDES RESIDUES IN FOOD, 1995).

Sun *et al* (2006) observaram que a exposição repetida a PM exerceu efeitos supressores sobre a atividade locomotora de ratos. No entanto, não foram observadas evidências de efeitos em longo prazo da PM sobre o aprendizado e a memória. Os dados

do presente estudo demonstram que a exposição repetida a PM causou alguns déficits funcionais no SNC, mas a atividade motora e o processo aprendizado/memória associativo diferem na sensibilidade para seus efeitos tóxicos. A disfunção motora em ratos tratados com PM pode ser mediada via balanço recíproco entre os sistemas dopaminérgicos e colinérgicos seguindo de hiper-estimulação colinérgica. O estudo também sugere que a indução de déficits no SNC pela exposição repetida a MP ou outros agrotóxicos OP não pode ser totalmente atribuída a inibição da AChE. Os autores sugerem que para a avaliação acurada do risco neurotóxico pela exposição ocupacional a doses sub-letais de PM, biomarcadores da potência da anticolinesterase *in vivo* são necessários (SUN, 2006).

Os efeitos da exposição oral durante 6 semanas a 0,851 e 8,51 mg/kg de propoxur, 0,218 e 0,872 mg/kg de parationa metílica e suas combinações foram investigados em ratos machos *Wistar*. Os desfechos avaliados foram os parâmetros toxicológicos gerais (ganho de peso corporal, peso dos órgãos), contagem de plaque-forming cell (PFC) do baço, comportamento no campo aberto (OF), sobressalto auditivo (ASR), inibição prepulse (PPI), desempenho na rotatória, potencial cortical auditório e somato sensorial produzido (somatosensory and auditory cortical evoked potentials) e velocidade de condução do nervo periférico. Os ratos tratados não apresentaram qualquer sinal de intoxicação aguda durante as seis semanas de exposição. Ambos os agentes produziram aumento dose-dependente da atividade no campo aberto, com maior expressão após 2 semanas do que após 6 semanas. A PM aumentou a amplitude após PPI. Observou-se um aumento no número de respostas e amplitude ASR, a amplitude PPI também foi aumentada pela PM. Nenhuma das duas substâncias sozinhas apresentou qualquer efeito sobre a resposta PFC. A combinação dos efeitos de alta dose de PR e baixas doses de PM foi significativamente diferente da alta dose de PR sozinho sobre o peso do fígado, sobre a amplitude ASR, e sobre a contagem células PFC/106 e PFC/baço. Com alta dose de PM e baixa dose de PR não foi observado nenhuma interação. De acordo com os resultados, a dose não efetiva de PM pode influenciar a toxicidade da dose efetiva de PR em uma situação de exposição combinada. (INSTITORIS et al, 2004)

Os efeitos da exposição ao endossulfam e a PM sobre o sistema nervoso incluem os sistemas colinérgicos e GABAérgicos, que são os principais moduladores da excitabilidade neuronal no córtex e hipocampo. O presente estudo testou se adultos expostos repetidamente a níveis baixos de formulações comerciais contendo ES e PM apresentam o aprendizado espacial no labirinto aquático desregulado. Cinco grupos compostos de oito animais receberam diluições apropriadas das formulações comerciais por via subcutânea durante 10 dias: salina, 25 mg/kg ES, 2 mg/kg MP (PM(2)), 25 mg/kg ES mais 1 mg/kg PM (ES+PM(1)) e 25 mg/kg ES mais 2 mg/kg PM (ES+PM(2)). Além disso, marcadores da função neurológica, danos renais e hepáticos como conseqüente potencial de exposição. Na ausência de toxicidade clara, os grupos expostos a ES mais PM apresentaram latência de fuga longa, maior número de falhas para alcançar a plataforma e mais tempo na periferia do tanque que os grupos controle e de exposição única. Esses achados mostram que a formulação comercial da PM e ES tem efeitos marginais quando administrado individualmente, mas podem produzir alterações comportamentais quando dados em combinação (CASTILLO et al, 2002)

Um estudo foi realizado para determinar os efeitos *in vivo* e *in vitro* da PM sobre o sistema neurotransmissor colinérgico no cérebro após a exposição a 0, 0,1, e 1,0 mg/kg PM (MA et al, 2003). Esse estudo revelou que a exposição a 0,1 mg/kg PM produziu inibição da acetilcolinesterase na caudate-putamen e thalamic nuclei; no entanto, a exposição a 1,0 mg/kg resultou na inibição da acetilcolinesterase em várias



regiões do cérebro, mas essa mesma dose não teve efeito sobre a ligação da [3H]QNB aos receptores muscarínicos na região do cérebro examinada. Além disso, o estudo *in vitro* resultou em efeitos inibitórios preferenciais da acetilcolinesterase e ligação [3H]QNB em regiões específicas do cérebro.

Ratas fêmeas adultas foram expostas a PM por via intravenosa, oral e dérmica, e foi encontrado que a administração dérmica da PM resulta em uma inibição dose-dependente da acetilcolinesterase que foi desenvolvida vagarosamente e prolongada; no entanto, a administração oral e intravenosa da PM resultou em diminuição rápida da atividade colinesterase a qual estava completamente recuperada dentro de 30 – 48 horas (KRAMER et al, 2002). Esse resultado suporta a afirmação de que a exposição dérmica a PM é mais efetiva que outras vias de exposição.

Estudo sobre os efeitos neuroquímicos associados com a exposição repetida de ratos neonatos e adultos a PM foram conduzidos para verificar se existe qualquer efeito da PM relacionado a idade. Ratos adultos (90 dias) e neonatos (7 dias) receberam PM diariamente por 14 dias e desfechos neuroquímicos, inibição da colinesterase, a ligação ao receptor muscarínico total ([3H]quinuclidinyl benzilato, QNB) e subtipo preferencial muscarínico M2 ([3H]AF-DX 384) no córtex frontal e estriato foram medidos após a 7<sup>o</sup> e 14<sup>o</sup> dose e 8 dias após a 14<sup>o</sup> dose (LIU et al, 1999). Esse estudo demonstrou que a atividade de ChE e receptores muscarínicos ligados estava mais reduzido na região cerebral de neonatos de forma oposta ao nível de atividade medida em regiões cerebrais dos adultos após exposição repetida. Além disso, a relação entre o grau de inibição da ChE e a redução do receptor muscarínico cortical aparece diferente entre as idades com redução mais extensiva notada em neonatos em oposição a adultos no nível dado de inibição ChE (LIU, et al, 1999).

Os efeitos da exposição repetida a PM sobre a atividade da colinesterase (ChE) cerebral e a densidade receptor de acetilcolina muscarínico total e de superfície (mAChR) foram estudados em ratos expostos por via oral (gavagem) do dia pós-natal 1 (DPN 1) ao dia pós-natal 21 (DPN 21). Os animais receberam 0,3 mg/kg de PM que foi aumentada gradualmente passando por 0,6 mg/kg de PM (dose intermediária) até chegar a dose de 0,9 mg/kg PM (maior dose). A atividade da colinesterase foi avaliada no homogeneizado cerebral. A densidade do mAChR sinaptosomal, superfície e total, foram avaliadas usando 3H-N-metilscopolamina (NMS) e 3H-quinuclidinyl benzilato (QNB) como ligantes, respectivamente. Aumento na atividade de ChE cerebral e densidade mAChR foram observados do DPN 6 até o DPN 22 do desenvolvimento. No DPN 21, a inibição da atividade da ChE foi observada nos grupos com doses baixa (26%), intermediária (42%) e alta (55%). A inibição também foi significativa nos dias pós-natal 30 (16–24%) e pós-natal 40 (12–14%), isto é, 9 e 19 dias após o fim do tratamento. A densidade dos sítios de ligação 3H-NMS e 3H-QNB nos grupos tratados estavam reduzidas significativamente no DPN 22, um dia após o fim do tratamento, e estava significativamente aumentada durante o período de recuperação (RUSSELL et al, 2003)

Ratos machos expostos a 264 mg/kg de parationa metilica por via inalatória apresentaram 59% de inibição da colinesterase sanguínea (combinação da plasmática e eritrocitária) 1 hora após a exposição (EPA 1978e apud ATSDR, 2001). Esses animais apresentaram típicos sinais de toxicidade colinérgica: salivação, exoftalmia, lacrimejamento, defecação e urina espontânea, e fasciculações musculares. A morte não foi correlacionada à inibição da colinesterase no sangue.

Sinais neurológicos ocorreram após a exposição oral a parationa metilica em doses que causaram redução dos níveis de colinesterase plasmática, cerebral e eritrocitária. Ratos machos que receberam 5 mg/kg via oral desenvolveram sinais

colinérgicos 7 minutos após a dosagem, com convulsões começando dentro de 16 minutos. A colinesterase plasmática estava reduzida 43,6% quando comparado ao controle (YOUSSEF et al. 1987 apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY DIVISION, 2001).

Ratos expostos a 4 ou 8 mg/kg/dia de parationa metílica via oral desenvolveram sinais colinérgicos, e todos os ratos morreram dentro de 4 dias. Dose oral única de 13 mg/kg ou doses repetidas de 1,3 mg/kg/dia por 10 dias induziu inibição significativa dos níveis de colinesterase plasmática e cerebral, os níveis do cérebro estavam inibidos em 43% do controle após dose única e 56% do valor do controle após doses baixas repetidas (YAMAMOTO et al. 1982 apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY DIVISION, 2001).

Ratos expostos, por via oral, a 1,5 mg/kg de parationa metilica e porquinhos-da-índia expostos oralmente a 50 mg/kg de PM apresentaram inibição máxima das atividades de colinesterase plasmática, eritrocitária e cerebral dentro de 30 minutos após a administração. Em roedores de ambas as espécies que morreram após intoxicação aguda os níveis de colinesterase cerebral diminuíram em 20% do valor do controle (MIYAMOTO et al. 1963b apud AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY DIVISION, 2001).

Enquanto a neurotoxicidade dos OP anticolinesterásicos tem sido extensivamente estudado, os efeitos sobre a função cardíaca têm recebido menos atenção. Mirajkar et al (2008) comparou a sensibilidade *in vitro* da ligação da acetilcolinesterase, butirilcolinesterase e [3H]oxotremorine-M a receptores muscarínicos no córtex e no coração de ratos adultos (3 meses) e idosos (18 meses) expostos ao clorpirifós, parationa metilina e seus metabólitos ativos clorpirifos oxon e paraoxon metil. Usando inibidores seletivos, a grande maioria da colinesterase no cérebro foi definida como acetilcolinesterase, enquanto a butirilcolinesterase foi a principal colinesterase no coração, indiferente da idade. No coração a butirilcolinesterase foi marcadamente mais sensível que a acetilcolinesterase para a inibição pelo clórpififos oxon, e a butirilcolinesterase em tecidos de ratos mais velhos foi mais sensível que enzima dos adultos, possivelmente devido a diferenças na detoxificação mediada pela esterase-A. Diferenças foram notadas no cérebro. Em contraste, a acetilcolinesterase foi mais sensível ao metal paraoxon que a butirilcolinesterase no coração e no cérebro, mas não foram notadas diferenças relacionadas a idade. Ambos os oxons deslocaram a ligação do [3H]oxotremorina-M no coração e no cérebro dos grupos de ambas as idades de maneira dependente da concentração. O clórpififós não teve efeito, mas a parationa metilica foi um potente deslocador da ligação no coração e no cérebro nos grupos de ambas as idades. Tais OP e diferenças relacionadas à idade na interação com macromoléculas colinérgicas pode ser importante devido ao potencial de exposição ambiental a inseticidas bem como o uso de anticolinesterásicos em desordens neurológicas relacionadas a idade. (MIRAJKAR et al, 2008)

Em um estudo de toxicidade em longo prazo (DALY, 1991) com ratos CD Sprague-Dawley, a avaliação oftalmoscópica, eletroretinograma, e microscopia de luz e eletrônica não revelou toxicidade ocular. Estudos morfométricos e microscópicos de várias preparações do nervo ciático e suas extensões revelaram lesões em animais expostos a concentrações de 12,5 e 50 ppm, que são consistentes com desmielinização. Essas incluem vesículas mielinas, ovóides mielina, proliferação das células de Schwann, e presença de células fagocíticas. O NOAEL para neurotoxicidade foi fixado em 2,5 ppm o equivalente a 0,11 mg/kg (DALY, 1992 *apud* Pesticides Residues in Food, 1995).

## 5. Aspectos Regulatórios – a situação internacional do registro da parationa metflica

Na tabela 8 observa-se que o Parationa Metflica está com uso restrito na Austrália, EUA, República do Congo e Colômbia. Neste último país sua condição é de extremamente restrito. Está proibido na China, Indonésia, e foi banido no Japão, Sri Lanka, e Tanzânia. Na União Européia está fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia.

**Tabela 8:** Situação Internacional do registro dos produtos a base de parationa metflica.

<b>País</b>	<b>Status Regulatório</b>
Austrália	uso restrito ( <i>phase out</i> – 2 anos)
China	Proibido
Colômbia <sup>1</sup>	uso extremamente restrito
EUA	uso restrito
Indonésia <sup>2</sup>	Proibido
Japão <sup>3</sup>	Banido
República do Congo	uso restrito
Sri Lanka <sup>4</sup>	Banido
Tanzânia <sup>5</sup>	Banido
Outros	Fora do Anexo I da Diretiva 91/414/EEC da União Européia.

1 Uso incorreto da substância em culturas de tabaco, feijão e soja.

2 Extremamente tóxico para humanos, mamíferos e outros animais

3 De acordo com “Judgement Criteria for Poisonous and Deleterious Substances”, foi observado pelo “Central Pharmaceutical Affairs Council” que essas substâncias químicas apresentam muitos casos de envenenamento devido à sua extrema toxicidade.

4 Intoxicações fatais e não fatais de agricultores.

5 Substância extremamente tóxica

Para a EPA-US a parationa metflica é um inseticida altamente tóxico da classe I. Todas as formulações da parationa metflica podem ser classificadas como inseticidas de uso restrito (RUPs). Os RUPs podem ser comprados e usados somente por aplicadores certificados. As etiquetas para os produtos que contêm a parationa metflica metflica devem trazer a palavra e o sinal de PERIGO (EXTOXNET, 2009). Ainda, nesse país, a aplicação é mecanizada, diminuindo consideravelmente a exposição dos trabalhadores.

## 6. Conclusões e Recomendações

Diversos portais e páginas eletrônicas referentes a dados toxicológicos dos Estados Unidos da América afirmam que a parationa metflica é tóxica para a pele e órgãos dos sentidos, sistemas respiratório, neurológico, cardíaco, gastrintestinal e imunológico, constando da lista de substâncias tóxicas para cada um desses sistemas mencionados (tabela 9).

**Tabela 9:** Sites de referência toxicológica dos EUA que sinalizam a parationa metílica como tóxica para diversos sistemas orgânicos.

<b>Efeito sobre a saúde da parationa metílica</b>	<b>Páginas eletrônicas (<i>sites</i>) de referência</b>
<b>Toxicidade para a pele e órgãos dos sentidos</b>	HAZMAP: A Relational Database of Hazardous Chemicals and Occupational Diseases. Browse Haz-Map by Adverse Effects: Dermatotoxin. <a href="http://hazmap.nlm.nih.gov/hazmapadv.html">http://hazmap.nlm.nih.gov/hazmapadv.html</a>
<b>Toxicidade respiratória</b>	RTECS: Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH. Environmental Defense utilized Chem-Bank CD-ROM (August 1997).
<b>Neurotoxicidade</b>	EPA-TRI: US EPA. Addition of Certain Chemicals; Toxic Chemical Release Reporting; Community Right to Know. Proposed and Final Rules. <i>59 Federal Register</i> 1788 (Jan 12, 1994); <i>59 Federal Register</i> 61432 (November 30, 1994). Summarized in <i>Hazard Information on Toxic Chemicals Added to EPCRA Section 313 Under Chemical Expansion</i> . <a href="http://www.epa.gov/tri/chemical/hazard_cx.htm">http://www.epa.gov/tri/chemical/hazard_cx.htm</a>  ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Minimal risk Levels for Hazardous Substances. January 2004. <a href="http://www.atsdr.cdc.gov/mrls.html">http://www.atsdr.cdc.gov/mrls.html</a>  DPR-CIP: California EPA, Department of Pesticide Regulation. Summary of Pesticide Use Report Data 2001 Indexed by Chemical: Use Trends of Cholinesterase Inhibiting Pesticides. <a href="http://www.cdpr.ca.gov/docs/pur/pur01rep/chmrpt01.pdf">http://www.cdpr.ca.gov/docs/pur/pur01rep/chmrpt01.pdf</a>  MASL: Massachusetts Department of Public Health. Commonwealth of Massachusetts. 105CMR 670.000 Administrative Bulletin Concerning Massachusetts Substance List for "Right to Know" Law, M.G.L. 111F. 4/24/93. (Appendix A: Massachusetts Substance List)  RTECS: National Institute for Occupational Safety and Health's Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. See Environmental Defense's Suspect Hazard Identification documentation.
<b>Imunotoxicidade</b>	HAZMAP: A Relational Database of Hazardous Chemicals and Occupational Diseases. Browse Haz-Map by Adverse Effects: Dermatotoxin - Skin Sensitizer or Photoallergic Contact Dermatitis. <a href="http://hazmap.nlm.nih.gov/hazmapadv.html">http://hazmap.nlm.nih.gov/hazmapadv.html</a>
<b>Cardiotóxicidade</b>	ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Minimal risk Levels for Hazardous Substances. January 2004
<b>Sistema</b>	EPA-TRI: US EPA. Addition of Certain Chemicals; Toxic

<b>gastrointestinal</b>	<p>Chemical Release Reporting; Community Right to Know. Proposed and Final Rules. 59 <i>Federal Register</i> 1788 (Jan 12, 1994); 59 <i>Federal Register</i> 61432 (November 30, 1994). Summarized in <i>Hazard Information on Toxic Chemicals Added to EPCRA Section 313 Under Chemical Expansion</i>. <a href="http://www.epa.gov/tri/chemical/hazard_cx.htm">http://www.epa.gov/tri/chemical/hazard_cx.htm</a></p> <p>RTECS: National Institute for Occupational Safety and Health's Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. See Environmental Defense's Suspect Hazard Identification documentation.</p>
-------------------------	--

Os efeitos decorrentes das mudanças globais na produção agrícola e pecuária têm imposto um modelo produtivo cada vez mais dependente de agrotóxicos que traz para a saúde pública enormes desafios que não podem ser enfrentados apenas por ações restritas ao campo da assistência médico-hospitalar aos intoxicados. Cabe uma ação integrada de proteção da saúde e do meio ambiente para uma efetiva promoção, proteção da saúde e de prevenção das situações de riscos e de danos nos processos produtivos e nos padrões de consumo de alimentos.

Pela Lei brasileira 7.802/89 um agrotóxico pode ter seu registro banido quando não houver métodos disponíveis para desativação do produto ou na ausência de antídoto ou tratamento eficaz, quando provocar distúrbios hormonais ou danos ao aparelho reprodutor; quando forem teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos. Além disso, também quando se apresenta mais perigoso para o homem do que em animais.

A parationa metílica é um organofosforado extremamente tóxico (Classe I) e promove vários efeitos adversos na saúde humana.

Além da extrema toxicidade da parationa metílica, a exposição perigosa a esse produto se deve também às dificuldades relacionadas com a indisponibilidade e/ou ineficiência de EPIs. Além disto, diversas questões de ordem social (baixa escolaridade, baixa renda) e biológica (idade e gênero) são fatores que aumentam a vulnerabilidade e a gravidade das intoxicações por esse organofosforado.

Nos animais, os metabólitos toxicologicamente relevantes da parationa metílica são: o paraoxon, paraoxon-metílica, p-nitrofenol. Através da corrente sanguínea o metil paraoxon é distribuído para órgãos como os pulmões, cérebro e intestino (ABBAS et al, 2008; LESSIRE et al, 1996; AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, 2001; TANG; CARR; CHAMBERS, 2003; EDWARDS; TCHOUNWOU, 2005). A capacidade da parationa metílica de atravessar membranas biológicas deve-se à lipossolubilidade dessa molécula (VILLENEUVE et al., 1972; DRAPER; STREET, 1981; CARVER; RIVIERE, 1989; WESTER et al, 1993; ABU-QARE et al, 2000; MA et al, 2003). Por esta razão é armazenada no tecido nervoso, atravessa a barreira hematoencefálica, provocando neurotoxicidade (GARCIA-REPETTO; MARTINEZ; REPETTO, 1997). Em mulheres grávidas pode transpor facilmente a placenta, atingindo o feto (VILLENEUVE et al, 1972; BANERJEE et al, 1991; CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION, 1999; ABU-QARE et al, 2000; FERRER, 2003; GONZÁLEZ-GARCÍA et al, 2008) e também pode ser encontrada no leite materno, com importantes repercussões para a saúde de neonatos e lactentes (SANGHI et al, 2003).

A parationa metílica tem a capacidade de atravessar membranas biológicas devido à sua elevada lipossolubilidade, atravessando inclusive a barreira placentária. Essa característica faz com que a exposição de mulheres grávidas à parationa metílica

represente risco para os fetos, que podem sofrer alterações no neurodesenvolvimento e maturação neurocomportamental.

A biotransformação da parationa metílica dá origem a um metabólito mais tóxico que o composto original, o metil paraoxon. Esse metabólito atinge diferentes órgãos e sistemas através da corrente sanguínea, sendo extremamente tóxico para o homem.

Os estudos de toxicidade aguda mostraram que a parationa metílica apresenta elevada toxicidade pelas vias oral, dérmica e inalatória. Os valores de DL<sub>50</sub> variaram entre 4,5 e 100 mg/kg, as principais alterações observadas nesses estudos foram: espasmo, sialorréia, sangramento ocular bilateral, exoftalmia, globo ocular com opacidade de córnea, miose bilateral, convulsões clônicas, dispnéia intensa, salivação, respiração lenta, apatia, congestão pulmonar, hipoatividade, tremores musculares generalizados, piloereção, postura corcunda, incoordenação motora, descoloração dos pulmões e intestinos e moderada congestão pulmonar.

A administração da parationa metílica em estudos experimentais com cães revelou significativa diminuição das células vermelhas do sangue e da colinesterase cerebral em machos e fêmeas tratados com a maior dose e uma redução da colinesterase plasmática (somente nos machos) bem como diminuição das células vermelhas do sangue nos machos e fêmeas tratados com 1 mg/kg de peso corpóreo/dia.

Quanto aos efeitos crônicos, é importante salientar que estudos que associem a exposição de agrotóxicos e a indução de câncer são escassos pela insuficiência de modelos sensíveis e específicos para esse fim. Isso pode ser o motivo pelos quais muitas substâncias que se mostram carcinogênicas para animais e apresentam diversos indicadores de mutagenicidade, não recebem a classificação de carcinogênicos para humanos por falta de resultados consistentes mediante estudos epidemiológicos e experimentais (BEDOR, 2008). No entanto a parationa metílica apresenta, segundo a literatura e dados de agências como a IPCS e ATDR, evidências de mutagenicidade em vários sistemas, tanto em testes *in vitro* quanto *in vivo*. Esses resultados mostram que esse agrotóxico não deve ser utilizado no Brasil, uma vez que segundo a Lei Federal nº 7.802 de 11/07/1989 (BRASIL, 1989) o dado comprovado de mutagenicidade gênica e/ou cromossômica de um agrotóxico é suficiente para proibição de seu registro.

A parationa metílica causou a diminuição da proliferação de linfócitos T induzida por mitógenos (fitohemaglutinina) (PARK; LEE, 1978; LEE ET AL, 1979) e a inibição da quimiotaxia de neutrófilos humanos (LEE, 1979).

Sangue humano foi utilizado para avaliar a resposta proliferativa de células mononucleares periféricas sanguíneas tratadas com um mitógeno (fitohemaglutinina) e expostas à parationa metílica por 24 horas. Nesse estudo foi observada a redução da proliferação celular e da secreção de IL-2 pela parationa metílica (LIMA; VEGA, 2005).

A quantificação de células formadoras de placa (PFC) é um ensaio preconizado para determinar o potencial imunossupressor de uma substância química. Nesse teste é avaliado o potencial de indução de anticorpos após a imunização com antígenos, geralmente eritrócitos de ovelha (DESCOTES, 1994). O aumento de PFC do baço foi observado em camundongos que receberam uma única dose (metade da DL<sub>50</sub>) de parationa metílica três dias antes da imunização. Embora tenha sido observado o aumento inicial do número de células, não foi observado aumento do título de anticorpos, mesmo sete dias após a imunização. O tratamento com uma dose 40 vezes menor que a DL<sub>50</sub> também provocou o aumento do número de células do baço (PFC) e manteve inalterado o de anticorpos (INSTITÓRIS ET AL, 1992).

A exposição de camundongos a 1 ou 3 mg/kg/dia de parationa metflica aumentou a atividade das células exterminadoras naturais no baço e diminuiu a reposta de anticorpos a eritrócitos de outra espécie animal (CRITTENDEN ET AL, 1998).

A ativação da IL-2, que se mostrou diminuída após a exposição de células à parationa metflica, ocorre através de mecanismos de fosforilação que podem ser o alvo da toxicidade desse e de outros OP. Isso indica que a parationa metflica pode interferir também com diversas outras vias de ativação que são reguladas por reações de fosforilação (Lima & Vega, 2005) e que são cruciais para a manutenção da homeostase.

Os resultados encontrados nos estudos avaliando parâmetros imunológicos após a exposição ao OP parationa metflica indicam que ele é imunossupressor de diversas populações de células imunocompetentes e inibidor da formação de anticorpos. Dessa maneira, a resposta imunológica inata e adquirida (mediada por anticorpos) pode ser prejudicada e, conseqüentemente, indivíduos expostos a parationa metflica poderiam ser mais susceptíveis a infecções por patógenos, ao desenvolvimento de cânceres ou ainda ao desenvolvimento de diversas alterações imunológicas como reações autoimunes.

Hiperglicemia e hipoinsulinemia foram observadas em ratos tratados com parationa metflica. A diminuição de insulina que ocorre em doenças graves como a diabetes mellitus tipo 1, desencadeia eventos que prejudicam a qualidade de vida do indivíduo e podem levar à morte, como aterosclerose, ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais.

A parationa metflica mostrou atividade estrogênica *in vitro* e antiandrogênica *in vivo*. Os resultados mostrados em sistemas *in vitro* mostram atividade estrogênica causada pela parationa metflica.

Em estudos com aves foi demonstrada a diminuição dos hormônios LH e testosterona em aves machos tratados com parationa metflica. A diminuição do peso dos testículos, do diâmetro dos túbulos seminíferos, do número de espermatozoides normais e alterações nas células germinativas também foram observadas em aves em outro estudo.

A diminuição do hormônio masculino e as alterações morfológicas observadas podem ser explicadas pela indução da atividade da aromatase observada em outro estudo onde um modelo *in vitro* foi utilizado para avaliação desse importante desfecho. A aromatase converte precursores andrógenos em estrógenos e sua indução pode ser a causa da diminuição dos níveis de testosterona observados em animais. A desregulação endócrina provocada pela parationa metflica pode alterar o desempenho reprodutivo.

A diferenciação e desenvolvimento do sistema reprodutivo dependem da ação hormonal. Sendo assim, substâncias capazes de interferir na produção ou ação de hormônios, as chamadas desreguladores endócrinos, podem comprometer identidade sexual, fertilidade ou comportamento. Existem evidências de que a exposição a certas substâncias químicas é um dos fatores que contribui para o surgimento de distúrbios do sistema reprodutivo masculino e feminino, incluindo alterações estruturais, funcionais e infertilidade (NEUBERT e CHAHOUD, 1995).

A toxicidade reprodutiva pode ser definida como a ocorrência de efeitos adversos no sistema reprodutivo após a exposição a uma substância química. A toxicidade pode ser direcionada aos órgãos reprodutivos e/ou ao sistema endócrino. A manifestação da toxicidade pode ser identificada como alterações no comportamento sexual, fertilidade, desfechos da gravidez ou modificações em outras funções que dependem da integridade do sistema reprodutivo de maneira geral (ATSDR, 2001).

A toxicidade do desenvolvimento refere-se aos efeitos adversos no organismo em formação que ocorrem após a exposição a substâncias químicas antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal, pós-natal até a maturação sexual. Efeitos adversos

no desenvolvimento podem ser detectados em qualquer momento da vida de um indivíduo (ATSDR, 2001).

Diversos estudos realizados mostraram que a parationa metflica exerce efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento, atrofia e retardo na ossificação em fetos expostos in útero, diminuição do ganho de peso fetal (IPCS, 1995), e sobre o sistema reprodutivo de fêmeas e machos, diminuição no ganho de peso ovariano, redução no número de folículos saudáveis, alteração dos ciclos estrais, diminuição do número de espermatozóides, aumento no número de espermatozóides morfológicamente anormais, dano citotóxico e atrofia testicular, aumento de danos no epitélio seminífero, diminuição da contagem de espermátides, do diâmetro dos túbulos seminíferos e da altura do epitélio (DHONDUP, 1997; SORTUR et al, 1999; LEVARIO-CARRILO et al, 2004; NARAYANA et al, 2005; NARAYANA, et al, 2006; NARAYANA, et al, 2007; PIÑA-GUZMÁN et al 2006; MAITRA et al, 2008).

Em conjunto esses dados indicam que a parationa metflica altera a qualidade do sêmen, o DNA e a cromatina espermática em diferentes estágios da espermatogênese, sugerindo efeito genotóxico sobre os espermatozóides, e que a alteração dos níveis de hormônios (LH e testosterona) pode estar associada a um potencial de desregulação endócrina da parationa metflica.

O principal mecanismo de neurotoxicidade da parationa metflica decorre da inibição da acetilcolinesterase, enzima essencial para a transmissão normal do impulso nervoso. Essa inibição ocorre de modo semelhante tanto em insetos (espécies alvo) quanto em mamíferos (espécies não alvo), e essa falta de especificidade representa risco para a saúde humana.

A intoxicação aguda pela parationa metflica induz uma série de efeitos deletérios sobre a saúde de humanos e animais. Podem ocorrer manifestações menos graves como vômito, diarreia, sudorese excessiva, salivação, lacrimejamento, miose, broncoconstrição, cólicas abdominais, bradicardia, taquicardia, dor de cabeça, tontura, cansaço, ansiedade, confusão mental e visão turva. Em casos mais graves pode ocorrer convulsão, depressão do centro respiratório, fasciculação dos músculos respiratórios com paralisia muscular, parada respiratória, coma e morte.

Esses efeitos agudos foram observados em seres humanos expostos à parationa metflica pela ingestão de alimentos contaminados a esse organofosforado, em exposições ocupacionais e acidentais e em tentativas de suicídio. Estudos experimentais realizados *in vitro* e em animais de laboratório expostos à parationa metflica corroboram os efeitos encontrados em humanos.

Esses fatos ratificam a importância epidemiológica da parationa metflica para humanos e animais.

Desordens psiquiátricas como depressão, que pode levar ao suicídio, déficit cognitivo, e parkinsonismo estão correlacionados com a exposição a organofosforados. O desenvolvimento de depressão pode levar ao suicídio. A parationa metflica, por ser um organofosforado, tem potencial para induzir esses efeitos.

Hiperglicemia e hipoinsulinemia foram observadas em ratos tratados com parationa metflica. A diminuição de insulina que ocorre em doenças graves como a diabetes mellitus tipo 1, desencadeia eventos que prejudicam a qualidade de vida do indivíduo e podem levar à morte, como aterosclerose, ataques cardíacos e acidentes vasculares cerebrais.

A parationa metflica mostrou atividade estrogênica *in vitro* e antiandrogênica *in vivo*. Os resultados mostrados em sistemas *in vitro* mostram atividade estrogênica causada pela parationa metflica.



Em estudos com aves foi demonstrada a diminuição dos hormônios LH e testosterona em aves machos tratados com parationa metílica. A diminuição do peso dos testículos, do diâmetro dos túbulos seminíferos, do número de espermatozóides normais e alterações nas células germinativas também foram observadas em aves em outro estudo.

A diminuição do hormônio masculino e as alterações morfológicas observadas podem ser explicadas pela indução da atividade da aromatase observada em outro estudo onde um modelo *in vitro* foi utilizado para avaliação desse importante desfecho. A aromatase converte precursores andrógenos em estrógenos e sua indução pode ser a causa da diminuição dos níveis de testosterona observados em animais. A desregulação endócrina provocada pela parationa metílica pode alterar o desempenho reprodutivo.

A diferenciação e desenvolvimento do sistema reprodutivo dependem da ação hormonal. Sendo assim, substâncias capazes de interferir na produção ou ação de hormônios, as chamadas desreguladores endócrinos, podem comprometer identidade sexual, fertilidade ou comportamento. Existem evidências de que a exposição a certas substâncias químicas é um dos fatores que contribui para o surgimento de distúrbios do sistema reprodutivo masculino e feminino, incluindo alterações estruturais, funcionais e infertilidade (NEUBERT e CHAHOUD, 1995).

A toxicidade reprodutiva pode ser definida como a ocorrência de efeitos adversos no sistema reprodutivo após a exposição a uma substância química. A toxicidade pode ser direcionada aos órgãos reprodutivos e/ou ao sistema endócrino. A manifestação da toxicidade pode ser identificada como alterações no comportamento sexual, fertilidade, desfechos da gravidez ou modificações em outras funções que dependem da integridade do sistema reprodutivo de maneira geral (ATSDR, 2001).

A toxicidade do desenvolvimento refere-se aos efeitos adversos no organismo em formação que ocorrem após a exposição a substâncias químicas antes da concepção, durante o desenvolvimento pré-natal, pós-natal até a maturação sexual. Efeitos adversos no desenvolvimento podem ser detectados em qualquer momento da vida de um indivíduo (ATSDR, 2001).

Diversos estudos realizados mostraram que a parationa metílica exerce efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento, atrofia e retardo na ossificação em fetos expostos in útero, diminuição do ganho de peso fetal (IPCS, 1995), e sobre o sistema reprodutivo de fêmeas e machos, diminuição no ganho de peso ovariano, redução no número de folículos saudáveis, alteração dos ciclos estrais, diminuição do número de espermatozóides, aumento no número de espermatozóides morfolologicamente anormais, dano citotóxico e atrofia testicular, aumento de danos no epitélio seminífero, diminuição da contagem de espermátides, do diâmetro dos túbulos seminíferos e da altura do epitélio (DHONDUP, 1997; SORTUR et al, 1999; LEVARIO-CARRILO et al, 2004; NARAYANA et al, 2005; NARAYANA, et al, 2006; NARAYANA, et al, 2007; PIÑA-GUZMÁN et al 2006; MAITRA et al, 2008).

Os dados indicam que a parationa metílica altera a qualidade do sêmen, o DNA e a cromatina espermática em diferentes estágios da espermatogênese, sugerindo efeito genotóxico sobre os espermatozóides, e que a alteração dos níveis de hormônios (LH e testosterona) podendo ser considerado um potencial desregulador endócrino.

Por último, cumpre ressaltar a recomendação da OMS para proibição de produtos extremamente tóxicos, com vista a redução de perigos à população exposta à este produtos (OPAS/OMS, 1996).

Pelo conjunto de efeitos nocivos da parationa metílica para a saúde humana, especialmente relacionados com a neurotoxicidade, imunotoxicidade, mutagenicidade, toxicidade para o sistema endócrino, reprodutor, para o desenvolvimento biológico e de

possuir características mais tóxicas para o ser humano do que testes com animais tenham podido demonstrar, conclui-se que apresenta as características proibitivas de registro, por esta razão o mesmo deve ter seu uso proibido no Brasil, de maneira a proteger a saúde dos trabalhadores expostos, dos consumidores e da população em geral. Dessa forma, todos os produtos a base desse ingrediente ativo devem ser proibidos na atividade agrícola e em outras que ofereçam possibilidade de exposição humana.

## 7. Referências Bibliográficas

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Basic immunology: functions and disorders of the immune system, Elsevier, 2008.

ABDOLLAHI, M.; DONYAVI, M.; POURNOURMOHAMMADI, S.; SAADAT, M. Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. **Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol**, v. 137, p. 343–347, 2004.

ABEL, E.L.; BAMMLER, T.K.; EATON, D.L. Biotransformation of methyl parathion by glutathione S-transferases. **Toxicol Sci**, v. 79, n. 2, p. 224-232, 2004.

ABU-QARE, A. W., et al. Placental transfer and pharmacokinetics of a single dermal dose of [14C]methyl parathion in rats. **Toxicological Sciences**, v. 53, p. 05-12, 2000.

ABU-QARE, A.; ABOU-DONIA, M. B. Urinary excretion of metabolites following a single dermal dose of [14C] methyl parathion in pregnant rats. **Toxicology** v. 150, p. 119-127, 2000.

ADER, R.; COHEN, N. Conditioning of the immune response. **Neth J Med**, v. 39, n. 3-4, p. 263-73, 1991.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografias: Parationa Metílica** Brasília, DF, 2002. Disponível em: <URL: <http://anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/poe.pdf> >. Acesso em: 20 mai. 2009.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY DIVISION. **Toxicological profile for Methyl parathion**. Atlanta, 2001.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY. **Toxicological profile for methyl parathion**. 2001.

AGUILAR, A.; RAGA, J. A. The Striped Dolphin Epizootic in the Mediterranean Sea. **Ambio**, v. 22, n.8, p. 524-528, 1993.

AHLBOM, J.; FREDRIKSSON, A.; ERIKSSON, P. Exposure to an organophosphate (DFP) during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behavior in adult mice **Brain Res**, v. 677, p. 13-19, 1995.

ALBORES, A.; ORTEGA-MANTILLA, G.; SIERRA-SANTOYO, A.; CEBRIÁN, M.E.; MUÑOZ-SÁNCHEZ, J.L.; CALDERÓN-SALINAS, J.V.; MANNO, M. Cytochrome P450 2B (CYP2B)-mediated activation of methyl-parathion in rat brain extracts. **Toxicol Lett**, v.124, n. 1-3, p. 1-10, 2001.

ALDRIDGE, W.N. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. **Biochem J**, v. 53, n. 1, p. 117-124, 1953.

ALON, M., et al. Organophosphates' resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. **Insect Biochem Mol Biol**, v. 38, n. 10, p. 940-949, 2008.

ALMEIDA, J. A.; SOARES, D. M. **Análise de variáveis sociais na questão do uso dos agrotóxicos: o caso da fumicultura**. *Ciência Ambiental*, 3:85-104, 1992.

ALVES FILHO, J. L. **Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos**. São Paulo: Annablume; FAPESP; 2002.

ARAÚJO, A.C.P., NOGUEIRA, D.P., AUGUSTO, L.G.S. Impacto dos praguicidas na saúde: estudo da cultura de tomate. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 309-313, jun. 2000.

ARAÚJO, A. J. et al. Multiple exposure to pesticides and impacts on health: a cross-section study of 102 rural workers, Nova Friburgo, Rio de Janeiro State, Brazil. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 115-130. 2007

ARIMA, H. et al. Transient and reversible parkinsonism after acute organophosphate poisoning. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 41, n. 1, p. 76-70, 2003.

ARKOOSH, M. R.; STEIN, J. E.; CASILLAS, E.. Immunotoxicology of an anadromous fish: Field and laboratory studies of B-cell mediated immunity. In: *Modulators of fish immune responses. Models for Environmental Toxicology/Biomarkers. Immunostimulators*. Vol. 1. J. S. Stolen, Fair Haven, NY. T. C. Fletcher (Eds.), 1994.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological profile for methyl parathion**. Atlanta, Georgia, USA, September 2001.

ATHANASOPOULOS P. E.; KYRIAKIDIS, N. V.; STAVROPOULOS, P. A study on the environmental degradation of pesticides azinphos methyl and parathion methyl. **J Environ Sci Health B**. v. 39, n. 2 p. 297-309, 2004.

BARNETT, J. B.; RODGERS, K. E. Pesticides. In: DEAN, J. H.; LUSTER, M. I.; MUNSON, A.E.; KIMBER, I. (Eds.). **Immunotoxicology and Immunopharmacology**. 2. Ed. Nueva York: Raven Press, 1994. p. 191-211.

BARR, D. B, et al. Measurement of p-nitrophenol in the urine of residents whose homes were contaminated with methyl parathion. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 6, p. 1085-1091. 2002.

BARRETO, C. A.; RIBEIRO, H. Agricultura e meio ambiente em Rio Verde (GO). **Revista Gestão Integrada em Saúde do trabalho e Meio Ambiente**, v. 3, p. 1-6, 2008. Disponível em: < [http://www.interfacehs.sp.senac.br/images/artigos/110\\_pdf.pdf](http://www.interfacehs.sp.senac.br/images/artigos/110_pdf.pdf) >. Acesso em: 7 mai. 2009.

BARTOLI, S. DNA damaging activity of methyl parathion. **Res Commun Chem Pathol Pharmacol.** v. 71, n. 2, p.209-218.1991

**BREAU, A. P et al. Mutagenic and cell transformation activities of representative phosphorothioate esters in vitro. J Toxicol Environ Health.** v. 16, n. 3-4, p. 403-413. 1985

CHEN, H.H., HSUEH, J.L., SIRIANNI, S.R., HUANG, C.C. Induction of sister-chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides. **Mutat. Res.**, v. 88, p.307-316.1981.

BASHA, P. M.; BEGUM, S.; NAYEEMUNNISA. Methyl parathion induced alterations in monoaminergic system of developing rat pups. **Indian J Exp Biol.** v. 39, 276-279, 2001.

BAUMGARDNER, J.N.; SHANKAR, K.; KOROURIAN, S.; BADGER, T.M.; RONIS M.J. Undernutrition enhances alcohol-induced hepatocyte proliferation in the liver of rats fed via total enteral nutrition. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 293, n. 1, p. G355-64, 2007.

BEACH, J. R., et al. Abnormalities on neurological examination among sheep farmers exposed to organophosphorous pesticides. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 53, p. 520-525, 1996.

BEDOR, CNG. **Potencial carcinogênico do agrotóxicos empregados na fruticultura e sua implicação para a vigilância da saúde.** Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.

BELL, E.M et al. 2001. A case-control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. **Epidemiology.** v.12, p. 148-156. 2001.

BERLIN, A.; DEAN, J.H.; DRAPER, M.H.; SMITH, E.M.B.; SPREAFICO, F. **Immunotoxicology.** Dordecht: Martinus Nijhoff, 1987.

BHATT M. H.; ELIAS, M. A.; MANKODI, A. K. Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication: five cases. **Neurology**, v. 52, n. 7, p. 1467-1471, 1999.

BJØRLING-POULSEN, M.; ANDERSEN, H. R.; GRANDJEAN, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. **Environmental Health**, v. 7, 2008.

BOUCHARD, M et al. Biological monitoring of exposure to organophosphorus insecticides in a group of horticultural greenhouse workers. **Ann. Occup. Hyg.** v. 50, n. 5, p. 505-515, 2006.

BRASIL. ANVISA. Divulgado resultado do monitoramento de agrotóxicos em alimentos. Brasília, 15 de abril de 2009. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/150409\\_1.htm](http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/150409_1.htm) . Acessado 5/6/2009.

BRASIL. ANVISA. **Manual de Vigilância de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília, Organização Pan-Americana da Saúde, 1997.

BRASIL. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Monitoramento do Risco Ambiental de Agrotóxicos: princípios e recomendações**. Documento 42. ISSN 1516-4691 Dezembro, 2004. Disponível em: [http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos\\_42.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/documentos_42.pdf). Acesso em 8/5/2009.

BRASIL. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997.

BRASIL. IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA**. Brasília, IBGE, 2002. Disponível em [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br), em 20/09/2005.

BRASIL. Lei nº 802, 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 de julho de 1989.

BRASIL. MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Informativo do Ministério do Meio Ambiente, Número 15, 2000. [acessado 2001 Ago 20]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/ascom/imprensa/marco2000/informma15.html>.

BRASIL. SINITOX. Sistema Nacional de Informações Tóxico- Farmacológicas. Casos Registrados de Intoxicação Humana e Envenenamento Base de Dados – Tabulação Nacional, 1997 - 2008. Disponível em: <http://www.cict.fiocruz.br/intoxicacoeshumanas/index.htm>, Acessado em 5/6/2009.

BRASIL. SISCOMEX. In: **Perfil Nacional da Gestão de Substâncias Químicas**. Comissão Nacional de Segurança Química – CONASQ. Disponível em: <http://www.opas.org.br/sausedotrabalhador/Arquivos/Sala248.pdf> Acessado em 8/6/2009.

BUTLER, A.M.; MURRAY, M. Biotransformation of parathion in human liver: participation of CYP3A4 and its inactivation during microsomal parathion oxidation. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 280, n. 2, p. 966-973, 1997.

CABELLO, G.; VALENZUELA, M.; VILAZA, A.; DURAN, V.; RUDOLPH, I.; HREPIC, N.; CALAF, G. A rat mammary tumor model induced by the organophosphorous pesticides parathion and malathion, possibly through acetylcholinesterase inhibition. **Environ Health Persp** v. 109, n. 5, p. 471-479, 2001.

CALDAS, E., SOUZA, L. C. Assessment of the chronic risk for ingestion of pesticide residues in the Brazilian diet. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 5, p.529-537. 2000.

CALDAS, E. D.; BOON, P. E.; TRESSOU, J. Probabilistic assessment of the cumulative acute exposure to organophosphorus and carbamate insecticides in the Brazilian diet. **Toxicology**, v. 222, p. 132-142, 2006.

CALIFORNIA DEPARTMENT OF PESTICIDE REGULATION. **Evaluation of methyl parathion as a toxic air contaminant. Part C. Human Health Assessment**, 1999. TAC 99-02C. Disponível em: <[www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/methylpa/exsumoct.pdf](http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/methylpa/exsumoct.pdf)>. Acesso em 05 mai. 2009.

CARR, R. L et al. Effects of PCB exposure on the toxic impact of organophosphorus insecticides. **Toxicological Sciences**, v. 67, 311-321, 2002.

CARVALHO, L. C. **Acute and chronic neurologic sequelae by organophosphate pesticides acute poisoning in rural Brazil**. Dissertação [mestrado]. Mestrado em Epidemiologia, London School of Hygiene and Tropical Medicine, University of London. 1993.

CARVER, M. P.; RIVIERE, J. E. Percutaneous absorption and excretion of xenobiotics after topical and intravenous administration to pigs. **Fundam. Appl. Toxicol.** v. 13, p. 714-722, 1989.

CASALE, G. P. et al. Inhibition of Interleukin 2 Driven Proliferation of Mouse CTLL2 Cells, By Selected Carbamate and Organophosphate Insecticides and Conengers of Carbaryl. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v.15, n.2-3, p. 199-215, 1993.

CASTILLO, C.G. MONTANTE, L. DUFOUR, M.L. MARTYNEZ, M.E. JIMENEZ-CAPDEVILLE. Behavioral effects of exposure to endosulfan and methyl parathion in adult rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 24 p. 797-804. 2002.

CASTORINA, R et al, 2003. Cumulative Organophosphate Pesticide Exposure and Risk Assessment among Pregnant Women Living in an Agricultural Community: A Case Study from the CHAMACOS Cohort. **Environ Health Perspect.** v.111, p. 1640-1648. 2003

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Gerenciamento de Riscos. Emergências Químicas. Manual de Produtos Químicos. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Ficha de Informação de Produto Químico. p – nitrofenol**. Disponível em: <[http://www.cetesb.sp.gov.br/Emergencia/produtos/ficha\\_completa1.asp?consulta=p%20-%20NITROFENOL.>](http://www.cetesb.sp.gov.br/Emergencia/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=p%20-%20NITROFENOL.>) Acesso em 23 mai. 2009.

CECCHINE, G.; GOLOMB, B. A.; HILBORNE, L. H.; SPEKTOR, D. M.; ANTHONY, C. R.: A review of the scientific literature as it pertains to Gulf War illnesses; Volume 8. Santa Monica, CA: RAND, MR-1018/8-OSD, 2000.

CHAMBERS, J. E.; CARR, R. L. Effects of paraoxon, *p*-nitrophenol, phenyl saligenin cyclic phosphate, and phenol on the rat. **Toxicology**. 105. p. 291-304. 1995.

CHAMBERS, J.E.; CHAMBERS, H.W.; SNAWDER, J.E. Target site bioactivation of the neurotoxic organophosphorus insecticide parathion in partially hepatectomized rats. **Life Sci**, v. 48, n. 10, p. 1023-1029, 1991.

CHEDIACK, Roberto. Salud ocupacional en el campo de los agroquímicos. In: Centro Panamericano de Ecología de Ecología Humana Y Saúde. **Plaguicidas, salud y ambiente**. México, INIREB, 1982, p. 119-39.

CLEMENT, J.G. Hormonal consequences of organophosphate poisoning. **Fundam Appl Toxicol**, v. 6, n. 2, p. S61-S77, 1985.

COCKER, J., MASON, H. J., GARFITT, S. J., JONES, K. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. **Toxicology Letters**, v. 134, p. 97–103, 2002.

CORTEZ-ESLAVA, et al. 2001; Metabolic activation of three arylamines and two organophosphorus insecticides by coriander (*Coriandrum sativum*) a common edible vegetable. **Toxicol Lett**. v.15, n. 125, p. 39-49. 2001.

COSTA, L. L. F. et al. Determinação de Herbicidas Usados no Cultivo de Arroz Irrigado na Região Sul Do Estado e Santa Catarina através da SPME-GC-ECD. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 79-83, 2008.

COSTA, L. G. Current issues in organophosphate toxicology. **Clinica Chimica Acta**, v. 366, p. 1-13, 2006.

CRAVÉDI, J.P.; PARIS, A.; MONOD, G.; DEVAUX, A.; FLOURIOT, G. VALOTAIRE, Y. Maintenance of cytochrome P450 content and phase I and phase II enzyme activities in trout hepatocytes cultured as spheroidal aggregates. **Comp Biochem Phys**, v. 113C, p. 241–246 1996.

COSTA, LG Current issues in organophosphate toxicology. **Clinica Chemica Acta**, v. 366, p. 1-13, 2006.

CRITTENDEN, P.L.; CARR, R.; PRUETT, S.B. Immunotoxicological assessment of methyl parathion in female B6C3F1 mice. **Toxicol Environ Health A**, v. 54, n. 1, p. 1-20, 1998.

CUNNINGHAM, M. L., MATTHEWS H.B. Cell proliferation as determining factor carcinogenicity of chemicals: studies with mutagenic carcinogens and mutagenic noncarcinogens. **Toxicology Letters**, Amisterdam, v. 82/83, p 9-14. 1995.

DA SILVA, E. S; MIDIO, A. F ;, GARCIA, E. G. A field method for the determination of whole blood cholinesterase. **Méd Lav**. v. 85, n. 3, p. 249-54. 1994.



DAVIES, J. O. J.; EDDLESTON, M.; BUCKLEY, N. A. Predicting outcome in acute organophosphorus poisoning with a poison severity score or the glasgow coma scale. **QJM**, v. 101, n. 5, p. 371-379, 2008.

DAVIS, K. L.; YESAVAGE J. A.; BERGER, P. A. Single case study. Possible organophosphate-induced parkinsonism. **J Nerv Ment Dis**, v. 166, n. 3, p. 222-225, 1978.

DEAN, A., et al. Organophosphate insecticide poisoning among Siblings - Mississippi. **MMWR**, v. 33, n. 42, p. 592-594, 1984.

DE BLEECKER, J et al. Prolonged toxicity with intermediate syndrome after combined parathion and methyl parathion poisoning. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 30, n. 3, p. 347-349, 1992.

DE BLEECKER, J.; VAN DEN NEUCKER, K.; COLARDYN, F. Intermediate syndrome in organophosphorus poisoning: a prospective study. **Crit Care Med**, v. 21, n. 11, p. 1706-1711, 1993.

DEGRAEVE, N., MOUTSCHEN, J. Absence of genetic and cytogenetic effects in mice treated by the organophosphorus insecticide parathion, its methyl analogue, and paraoxon. **Toxicology**. v.32, n. 2. p. 177-183. 1984

DE GUISE, S., et al. Possible Mechanisms of Action of Environmental Contaminants on St. Lawrence Beluga Whales (*Delphinapterus leucas*). **Environmental Health Perspectives**, v. 103, sup. 4, p. 73-77, 1995.

DE LIMA, J.S.; BASTOS NETO, J.D.; BASTOS, V.L.; DA CUNHA, J.C.; MORAES, F.F.; FERREIRA M.F.; MOREIRA, J.D.; FARIA, M.V. Methyl parathion activation by a partially purified rat brain fraction. **Toxicol Lett**, v. 87, n. 1, p. 53-60, 1996.

DESCOTES, J. **An Introduction to immunotoxicology**. Taylor and Francis, 1994  
DE WILDT, S.N.; KEARNS, G.L.; LEEDER, J.S.; VAN DEN ANKER, J.N. Cytochrome P450 3A: ontogeny and drug disposition. **Clin Pharmacokinet**, v. 37, n. 6, p. 485-505, 1999.

DHONDUP, P.; KALIWAL, B.B. Inhibition of ovarian compensatory hypertrophy by the administration of methyl parathion in hemicastrated albino rats. **Reprod Toxicol**, v. 11, n. 1, p. 77-84.

DOHERTY, J. D. Screening pesticides for neuropathogenicity. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2006, n. 3, 2006.

DRAPER, W. M.; STREET, J. C. Drift from a commercial aerial application of methyl parathion and ethyl parathion: An estimation of potential human exposure. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**. v. 26, p. 530-536, 1981.

DUNIER, M.; SIWICKI, A. K. Effects of Pesticides and Other Organic Pollutants in the Aquatic Environment on Immunity of Fish: A Review. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 3, p. 423-438, 1993.

DYRO, F. M.: Organophosphates. **eMedicine**. Updated 13 March 2003. Disponível em: [http://www.emedicine.com/neuro/topic286.htm].

EATON, D.L.; KLAASSEN, C.D.. In: Casarett & Doull's Toxicology. **Principles of toxicology**. Ed: Klaassen CD. Mc Graw-Hill: 2001.

ECOBICHON, D. J. Toxic effects of pesticides. In: AMDUR M. O.; DOULL J.; KLAASSEN C. D. **Casarett and Doll's toxicology: the basic science of poisons**. 4 ed. New York: Mc Graw Hill. 1996, p. 565-622.

ECOBICHON DJ. **Toxic Effects of Pesticides**. In: Klaassen CD (ed.). New York; 2001. p. 769-84.

EDWARDS, F. L.; TCHOUNWOU, P. B.. Environmental toxicology and health effects associated with methyl parathion exposure – a scientific review. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 2, n. 3, p. 430-441, 2005.

ESKENAZI, B.; BRADMAN, A.; CASTORINA, R. Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, s. 3, p. 409-419, 1999.

ESKENAZI, B et al. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. **Environ Health Perspect**. v. 112, n. 10, p.1116-24. 2004

ESKENAZI, B et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young mexican-american children. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 5, p. 792-798, 2007.

ESKENAZI, B et al. Pesticide toxicity and the developing brain. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 102, p. 228-236, 2008.

EVANS, W.E.; RELLING, M.V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. **Science**, v. 286, n. 5439, P.487-491, 1999.

E X T O X N E T - Extension Toxicology Network. Pesticide Information Profiles. **Methyl parathion**. 1996 <http://extoxnet.orst.edu/pips/methylpa.htm>. Acesso em 27/05/2009.

EXTOXNET **Pesticide Management Program**, Cornell University, US, 1994. Disponível em: <<http://www.pan-uk.org/pestnews/Actives/methylpa.htm>.> Acesso em 20 mai. 2009.

EXTOXNET - Extension Toxicology Network. Cholinesterase inhibition. *Toxicology Information Briefs*. Revised September 1993. Disponível em: [http://extoxnet.orst.edu/tibs/cholines.htm].

FALK, J.W., et al; **Suicídio e Doença Mental em Venâncio Aires:** Consequência do uso de agrotóxicos organofosforados? Porto Alegre, 1999. (Mimeografado); Relatório de pesquisa.

FAN, A.; STREET, J.C.; NELSON, R.M. Immunosuppression in mice administered methyl parathion and carbofuran by diet. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 45, p. 235-241, 1984.

FAO. Evaluations of Some Pesticide Residues in Food. The Monographs FAO/PL:1968/M/9/1. WHO/FOOD ADD./69.35, 1968.

FARIA, N.M.X; FASSA, A.G.; FACHINI, L.A. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciênc. Saúde Coletiva**. v.12 no.1: 25-38, 2007.

FARIA, N. M.; FACCHINI, L. A.; FASSA, A. G.; TOMASI, E. Processo de Produção Rural e Saúde na Serra Gaúcha: um estudo descritivo. **Caderno de Saúde Pública**, v. 16, n. 1, p. 115-28, 2000.

FARIA, N. M.; FACCHINI, L. A.; FASSA, A. G.; TOMASI, E. Estudo transversal sobre a saúde mental de agricultores da Serra Gaúcha (Brasil). **Revista Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 391-400, 1999.

FAZEKAS, G. I. apud **AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY**, 2001.

FAZEKAS, I. G.; RENGEI, B.; LETHAL WOFATOX KRAMER, R. E.; WELLMAN, S. E.; ZHU, H.; ROCKHOLD, R. W.; BAKER, R. C.: A comparison of cholinesterase activity after intravenous, oral or dermal administration of methyl parathion. **Journal of Biomedical Science**, v. 9, n.2, p. 140-148, 2002.

FERRER, A. Intoxicación por Plaguicidas. **An Sist Sanit Navar**. v. 26, s. 1, p. 155-171, 2003.

FEUER, G. Action of pregnancy and various progesterones on hepatic microsomal activities. **Drug Metab Rev**, v.9, n. 1, p. 147-169, 1979.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Decision Guidance Documents – Methamidophos**. Roma, 1996.

FORD, E.S. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome. A summary of the evidence. **Diabetes Care**, v. 28, p. 1769-1778, 2005.

FORSYTH, C.S.; CHAMBERS, J.E. Activation and degradation of the phosphorothionate insecticides parathion and EPN by rat brain. **Biochem Pharmacol**, v. 38, n. 10, p. 1597-1603, 1989.

FREITAS, B.M. & IMPERATRIZ-FONSECA, VL. **A importância econômica da polinização**. Mensagem Doce.v.80, p.44-46, 2005.

GALAL, E. E.; LATIF, M. A.; KANDIL, A.: The percutaneous cardiac toxicokinetics of anticholinesterase insecticides. **Journal of Drug Research**, v. 7, p. 20-43. 1975.

GALLO, M. A. AND LAWRYK, N. J. **Organic phosphorus pesticides**. In Handbook of Pesticide Toxicology. Hayes, W. J., Jr. and Laws, E. R., Jr., Eds. Academic Press, New York, NY, 1991.p. 5-3.

GALLOWAY, T.; HANDY, R. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. **Ecotoxicology**, v. 12, n. (1-4), p. 345-363, 2003.

GARCIA E.G. **Segurança e saúde no trabalho rural: a questão dos agrotóxicos**. São Paulo: MTE/FUNDACENTRO; 2001.

GARCIA, S. J. et al. Methyl parathion: A review of health effects. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 6, p. 185-210, 2003.

GARCÍA-REPETTO R.; MARTÍNEZ, D.; REPETTO, M. Biodisposition study of the organophosphorus pesticide, methyl-parathion. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 59, n. 6, p. 901-908, 1997.

GHISELLI, G. **Remediação de Solos contaminados com Pesticidas Organoclorados utilizando Reagente de Fenton**. 2001. Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Estadual de Campinas - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

GIBSON, G.G.; SKETT, P. **Introduction to drug metabolism**. 2nd Ed. Stanley Thornes Publishers: 1994.

GOLDMAN, J.M.; LAWS, S.C.; BALCHAK, S.K.; COOPER, R.L.; KAVLOCK, R.J. Endocrine-disrupting chemicals: prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid activity in the female rat. A focus on the EDSTAC recommendations. **Crit Rev Toxicol**, v. 30, n. 2, p. 135-196, 2000.

GONZÁLEZ-GARCÍA, B. et al. Decrease of muscarinic cholinergic receptors expression in placenta from rats exposed to methyl parathion. **Hum Exp Toxicol**, v. 27, n. 3, p. 241-246, 2008.

GOSS, D.W. Screening Procedure for Soils and Pesticides for Potential Water Quality Impacts. **Weed Technology**, v.6, p.701-708, 1992.

GRASMAN, K. A. Developmental Immunotoxicity of Environmental Contaminants in Fish-Eating Birds of the Great Lakes. In: **Conference, Chemically-induced Alterations in the Developing Immune System: The Wildlife/Human Connection**, Racine, Wisconsin, 10-12 feb. 1995.

GRAY, L.E. JR. Xenoendocrine disrupters: laboratory studies on male reproductive effects. **Toxicol Lett**, v. 102-103, p. 331-335, 1998.

**GRIFFIN, D. E; HILL, W.E. In vitro breakage of plasmid DNA by mutagens and pesticides. *Mutat Res.* v. 52, n. 2, p.161-9.1978.**

**GROVER, I.S; MALHI, P.K. Genotoxic effects of some organophosphorous pesticides. I. Induction of micronuclei in bone marrow cells in rat. *Mutat Res.* v.155, n. 3, p.131-140. 1985.**

GUIDELINES FOR NEUROTOXICITY RISK Assessment. Federal Register v. 63 (93). p. 26926-26954. 1998.

GUO-ROSS, S. X. et al. Altered muscarinic acetylcholine receptor subtype binding in neonatal rat brain following exposure to chlorpyrifos or methyl parathion. **Toxicol. Sci.**, v. 100, p. 118-127, 2007.

GUPTA, R. C., et al. Brain cholinergic, behavioral, and morphological development in rats exposed in utero to methyl parathion. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 77, p. 405-413, 1985.

HADLEY, M. **Endocrinology**. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall: 2000.

HANCOCK, D. B. et al. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. **BMC Neurol**, v. 28, n. 8, 2008.

HANTSON, P. et al. Regulation of body temperature after acute organophosphate poisoning. **Can J Anaesth.** v. 43, p. 755, 1996.

HARNLY, M et al. Correlating agricultural use of organophosphates with outdoor air concentrations: a particular concern for children. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 9, p. 1184-1189, 2005.

**HERBOLD, B. A. Preliminary results of an international survey on sensitivity of *S. typhimurium* strains in the ames test. *Toxicol Lett.* v.15, n. 1, p:89-93. 1983**

HERMANOWICZ, A; KOSSMAN, S. Neurophil function and infectious disease in workers occupationally exposed to phosphoorganic pesticides: role of mononuclear-derived chemotactic factor for neutrophils. **Clinical immunology and immunopathology**, v. 33, p. 13-22, 1984.

HILL-Jr. et al. Public Health Decisions: The Laboratory's Role in the Lorain County, Ohio, Investigation. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, s. 6, p. 1057-1059, 2002.

HODGSON, E.; ROSE, R.L. Metabolic interactions of agrochemicals in humans. **Pest Manag Sci**, v. 64, n. 6, p. 617-621, 2008.

HOLLAND, N et al. Paraoxonase polymorphisms, haplotypes, and enzyme activity in latino mothers and newborns. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 7, 2006.

HOLLINGWORTH, R.M.; ALSTOTT, R.L.; LITZENBERG, R.D. Glutathione S-aryl transferase in the metabolism of parathion and its analogs. **Life Sci**, v. 13, n. 3, p.191-199, 1973.

HOLLINGWORTH, R. M. **Insecticides biochemistry and physiology**. Wilkinson, C. F., ed.; New York: Plenum, 1976, p. 431.

HUANG, Y.S.; SULTATOS, L.G. Glutathione-dependent biotransformation of methyl parathion by mouse liver *in vitro*. **Toxicol Lett**. v. 68, n. 3, p. 275-284, 1993.

IMPERATRIZ-FONSECA, V.L; GONÇALVES, LS; JONG, D.D; FREITAS, B.M.; CASTRO, M.S.; ALVES DOS SANTOS, I.; VENTURIERI, G. As abelhas e o desenvolvimento rural no Brasil. **Mensagem Doce**, n.80, p.3-18, 2005.

INSTITÓRIS, L.; SIROKI, O.; TÓTH, S.; DÉSI, I. Immunotoxic effects of MPT-IP containing 60% methylparathion in mice. **Hum Exp Toxicol**, v. 11, n. 1, p. 11-16, 1992.

INSTITORIS, L. PAPP, A.; SIROKI, O.; BANERJEEB, B.D. Comparative investigation of behavioral, neurotoxicological, and immunotoxicological indices in detection of subacute combined exposure with methyl parathion and propoxur in rats. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, p. 270-277, 2004.

INSTITORIS, L.; SIROKI, O.; DÉSI, I. Department of Public Health, A. Szent-Györgyi Univ. Immunotoxicity study of repeated small doses of dimethoate and methylparathion administered to rats over three generations. **Hum Exp Toxicol**. v. 14, n. 11, p. 879-883, 1995.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors**, 2002.

IPCS. International Programme On Chemical Safety. Health and Safety Guide N. 75. **Methyl parathion. health and safety guide**. World Health Organization. GENEVA, 1992.

IPCS (The International Programme on Chemical Safety). **Environmental Health Criteria 145**. 1992. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc145.htm>> acesso em 04 mai. 2009.

IPCS (The International Programme on Chemical Safety). **Parathion-Methyl (addendum)**. 1995. Disponível em <<http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v95pr14.htm>> acesso em 04 mai. 2009.

IRIS -Integrated Risk Information System. Chronic Reference Dose for Methyl Parathion. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1991.

JAMESON, R. R.; SEIDLER, F. J; SLOTKIN, T. A. Nonenzymatic functions of acetylcholinesterase splice variants in the developmental neurotoxicity of

organophosphates: chlorpyrifos, chlorpyrifos oxon, and diazinon. **Environmental Health Perspectives**. v. 115, n. 1, 2007.

JAYAWARDANE, P, et al. The spectrum of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: a prospective cohort study from Sri Lanka. **Plos Medicine**, v. 5, n. 7, p. 1143-1153, 2008.

JOHNSON, M. K. Organophosphates and delayed neuropathy: is NTE alive and well? **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 102, 385-399, 1990.

JUCHAU, M.R. Mechanisms of drug biotransformation reactions in the placenta. **Fed Proc** v. 31, p.48–51, 1972.

JUN, T.; RUSSELL, L. e JANICE E. CHAMBERS. **The Effects of Repeated Oral Exposures to Methyl Parathion on Rat Brain Cholinesterase and Muscarinic Receptors during Postnatal Development**. **TOXICOLOGICAL SCIENCES**, v. 76, p.400–406, 2003.

KALOYANOVA-SIMEONOVA (1977) **Interaction of pesticides. In Health effects of combined exposure to chemicals in work and communities environments**. In: Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, p.165-195 (Interim document 11 ), 1983.

KAMANYIRE, R.; KARALLIEDDE, L. Organophosphate Toxicity and Occupational Exposure. **Occupational Medicine**, v.54, p. 69-75, 2004.

KAMANYIRE, R.; KARALLIEDDE, L. Organophosphate Toxicity and Occupational Exposure. **Occupational Medicine**, v.54, p. 69–75, 2004.

KAMEL, F. et al. Neurologic Symptoms in licensed private pesticide applicators in the agricultural health study. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 07, 2005.

KAMEL, F.; HOPPIN, J. A. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 9, 2004.

KARALLIEDDE, L; SENANAYAKE, N. Organophosphorus insecticide poisoning: a review. **Br J Anaesth**. v.63, p.736–750, 1989.

KAUSHIK, R.; ROSENFELD, C. A.; SULTATOS, L.G. Concentration-dependent interactions of the organophosphates chlorpyrifos oxon and methyl paraoxon with human recombinant acetylcholinesterase. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 221, n. 2, p. 243-250, 2007.

KAVLOCK, R.J.; DASTON, G.P.; DEROSA, C.; FENNER-CRISP, P.; GRAY, L.E.; KAATTARI, S.; LUCIER, G.; LUSTER, M.; MAC, M.J.; MACZKA, C.; MILLER, R.; MOORE, J.; ROLLAND, R.; SCOTT, G.; SHEEHAN, D.M.; SINKS, T.; TILSON, H.A. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. **Environ Health Perspect**, v. 104, suppl 4, p. 715-740, 1996.

KELLAR, K. J. Overcoming inhibitions. **PNAS**, v. 103, n. 36, p. 13263-13264, 2006. Disponível em: <www.pnas.org\_cgi\_doi\_10.1073\_pnas.0606052103>. Acesso em: 12 abr. 2009.

KELLNER, T.; SANBORN, J.; WILSON, B. *In vitro* and *in vivo* assessment of the effect of impurities and chirality on methamidophos-induced neuropathy target esterase aging. **Toxicol Sci**, v. 54, n. 2, p. 408-415, 2000.

KHAN, S.U. **Pesticides in the soil environment**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1980. 240p.

KIDD, H.; JAMES, D. R., Eds. *The Agrochemicals Handbook*, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, 1991 (as updated).5-14.

KISS, Z; FAZEKAS, T. Arrhythmias in organophosphate poisonings. **Acta Cardiol**. v.34, p.323-330, 1979

KLAASSEN, C. D. Tóxicos ambientais não - metálicos: Poluentes atmosféricos, solventes, vapores e pesticidas. In: GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. P. 1077-1094.

KOMATZU, E.; VAZ, J.M. Otimização dos parâmetros de extração para determinação multiresíduo de pesticidas em amostras de água empregando microextração em fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 720-724, 2004.

KOKKA, N., CLEMONS, G.K., LOMAX, P. Relationship between the temperature and endocrine changes induced by cholinesterase inhibitors. **Pharmacology**, v. 34, N. (2-3), p. 74-9. 1987.

KRAMER, R. E.; HO, I. K. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methyl parathion. **Chinese Medical Journal (Taipei)**, v. 65, n. 5, p. 187-199, 2002.

KRAMER; R. E., et al. Pharmacokinetics of methyl parathion: A comparison following single intravenous, oral or dermal administration. **Journal of Biomedical Science**, v. 9, p. 311-320, 2002.

KUMAR, S. 2004. Occupational exposure associated with reproductive dysfunction. **Journal of Occupational Health**, v. 46, p. 1-19, 2004.

LAETZ, C. A., et al. The synergistic toxicity of pesticide mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific salmon. **Environ Health Perspect**, v. 117, n. 3, p. 348-353, 2009.

LANDRIGAN, P. J et al. Pesticides and inner-city children: exposures, risks, and prevention. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, s. 3, p. 431-437, 1999.

LAHVIS, G. P., et al. In-Vitro Lymphocyte Response of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*): Mitogen-Induced Proliferation. **Marine Environmental Research**, v. 35, p. 115-119, 1993.



LASSITER, T.L.; RYDE I.T.; MACKILLOP, E.A.; BROWN, K.K.; LEVIN, E.D.; SEIDLER, F.J.; SLOTKIN, T.A. Exposure of neonatal rats to parathion elicits sex-selective reprogramming of metabolism and alters the response to a high-fat diet in adulthood. **Environ Health Perspect**, v. 116, n. 11, p. 1456-1462, 2008.

LASSITER, T.L.; BRIMIJOIN, S. Rats gain excess weight after developmental exposure to the organophosphorothionate pesticide, chlorpyrifos. **Neurotoxicol Teratol**, v. 30, p. 125-130, 2008.

LATOX. Laboratório de análises toxicológicas. Adriana N. Wolfferbüttel (Química Toxicologista). **Laudo de análise toxicológica Nº 070103 V/08**, de 18 de agosto de 2008.

LAVILLE, N.; BALAGUER, P.; BRION, F.; HINFRAY, N.; CASELLAS, C.; PORCHER, J.M.; AÏT-AÏSSA, S. Modulation of aromatase activity and mRNA by various selected pesticides in the human choriocarcinoma JEG-3 cell line. **Toxicology**, v. 228, n. 1, p. 98-108, 2006.

LEE, T.-P.; MOSCATI, R.; PARK, B. H. Effects of Pesticide on Human Leukocyte Functions. **Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology**, v. 23, n. 3, p. 597-609, mar. 1979.

LEE, J.; HENG, D.; MA, S.; CHEW, S.K.; HUGHES, K.; TAI, E.S. The metabolic syndrome and mortality: the Singapore Cardiovascular Cohort Study. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 69, p. 225-230, 2008.

LEVARIO-CARRILO, M.; OLAVE, M. E.; CORRAL, D. C.; LDERETE, J. G.; GAGIOTI, S. M.; BEVILACQUA, E. Placental morphology of rats prenatally exposed to ethyl parathion. **Experimental Toxicological Pathology**, v. 55, n. 6, p. 489-496, 2004.

LIMA, F. J. C, et al. Inseticida Organofosforado Metamidofós: Aspectos Toxicológicos e Analíticos. Pesticidas: **R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11: 17-34, jan.-dez., 2001.

LIMA, A.; VEGA, L. Methyl-parathion and organophosphorous pesticide metabolites modify the activation status and interleukin-2 secretion of human peripheral blood mononuclear cells. **Toxicology Letters**, v. 158, p. 30-38, 2005.

LIU, J.; CHAKRABORTI, T.; POPE, C. *In vitro* effects of organophosphorus anticholinesterases on muscarinic receptor-mediated inhibition of acetylcholine release in rat striatum. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 178, p. 102-108, 2002.

LIU, J.; OLIVIER, K.; POPE, C. N. Comparative neurochemical effects of repeated methyl parathion or chlorpyrifos exposures in neonatal and adult rats. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 158, n.2, p. 186-196, 1999.

LOTTI, M et al. Interactions between neuropathy target esterase and its inhibitors and the development of polyneuropathy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 122, issue 2, p. 165-171, 1993.

LOTTI, M.; MORETTO, A. Organophosphate-induced delayed polyneuropathy. *Toxicol Rev.*, v. 24, n. 1, p. 37-49, 2005.

LOUREIRO, A. P, M., MASCIO, P. D. J., MEDEIROS, M; H. G. Formação de adutos exocíclicos com bases de dna: implicações em mutagênese e carcinogênese. *Quim. Nova*, v. 25, n. 5, p. 777-793, 2002.

LUKASZEWICZ-HUSSAIN, A.; MONIUSZKO-JAKONIUK, J.; PAWŁOWSKA, D. Blood glucose and insulin concentration in rats subjected to physical exercise in acute poisoning with parathion-methyl. *Pol J Pharmacol Pharm*, v. 37, n. 5, p. 647-651, 1985.

LUKIĆ ML, STOSIĆ-GRUJICIĆ S, SHAHIN A. Effector mechanisms in low-dose STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES. *DEV IMMUNOL*, V. 6, N. 1-2, P. 119-128, 1998.

MA, T.; KRAMER, R. E.; BAKER, R. C.; FAN, L. W.; HO, I. K.. Effects of chronic dermal exposure to nonlethal doses of methyl parathion on brain regional acetylcholinesterase and muscarinic cholinergic receptors in female rats. *J Neurosci Res*, v. 71, n. 1, p. 138-145, 2003.

MAITRA, S.K.; MITRA, A. Testicular functions and serum titers of LH and testosterone in methyl parathion-fed roseringed parakeets. *Ecotoxicol Environ Saf*, v. 71, n. 1, p. 236-244, 2008.

MALHI, P.K., GROVER, I. S. Genotoxic effects of some organophosphorus pesticides. II. *In vivo* chromosomal aberration bioassay in bone marrow cells in rat. *Mutat. Res.*, v.188, p.45-51. 1987

-MASHARANI, U; KARAM, J.H. Pancreatic hormones & Diabettes Mellitus. In: *Basic & Clinical Endocrinology*. McGraw Hill Companies. 2001

MATHEW, G.; VIJAYALAXMI, K.K.; ABDUL RAHIMAN, M. Methyl parathion-induced sperm shape abnormalities in mouse. *Mutat Res*, v. 280, n. 3, p. 169-173, 1992.

MATHEW, G; RAHIMAN, M. A; VIJAYALAXMI, K. K. *In vivo* genotoxic effects in mice of Metacid 50, an organophosphorus insecticide. *Mutagenesis*. v. 5, n. 2. p.147-9,1990.

MATSUSHITA, T. et al. Mutagenicity of anaerobic fenitrothion metabolites after aerobic biodegradation. *Chemosphere*, Oxford, v. 61, p.1134-1141. 2005.

MATSUSHITA, T., MATSUI, Y., MATSUI, Y. Estimating mutagenic compounds generated durind photolysis of fenitrotjion – by HPLC fractionation followed by

- mutagenicity testing and high-resolution GC-MS analysis. **Chemosphere**, Oxford, v. 64, n. 1, p. 144-155. 2006
- MCCANN, K. G. et al. Chicago Area methyl parathion response. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, s. 6, p. 1075-1078, 2002.
- McCONNELL, R et al. Organophosphate neuropathy due to methamidophos: biochemical and neurophysiological markers. **Arch Toxicol**, v. 73, n. 6, p. 296-300, 1999.
- MEGGS, W.J.; BREWER, K.L. Weight gain associated with chronic exposure to chlorpyrifos in rats. **J Med Toxicol**, v. 3, n. 3, p. 89-93, 2007.
- MENDELSON, C.R.; WRIGHT, E.E.; EVANS, C.T.; PORTER, J.C.; SIMPSON, E.R. Preparation and characterization of polyclonal and monoclonal antibodies against human aromatase cytochrome P-450 (P-450AROM), and their use in its purification. **Arch Biochem Biophys**, v. 243, n. 2, p. 480-491, 1985.
- MEYER, A. et al. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil **Environmental Research**, Basel, v. 93, n. 3, p. 264-71, nov. 2003.
- MEYER, A.; SEIDLER, F.J.; SLOTKIN, T.A. Developmental effects of chlorpyrifos extend beyond neurotoxicity: critical periods for immediate and delayed-onset effects on cardiac and hepatic cell signaling. **Environ Health Perspect**, v. 112, p. 170-178, 2004.
- MIRAJKAR, N.; CAREY N. POPE. *In vitro* sensitivity of cholinesterases and [3H]oxotremorine-M binding in heart and brain of adult and aging rats to organophosphorus anticholinesterases. *Biochemical Pharmacology*, 2008 .[REFERÊNCIA DE MÁRCIA: FALTAM VÓLUME E PÁGINAS]
- MOHAMMED, K. B., MA, T. H. Tradescantia-micronucleus and -stamen hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticides. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 426, p. 193-199. 1999.
- MONTOYA-CABRERA, M. A. et al. Acute methyl parathion poisoning with extrapyramidal manifestations not previously reported. **Gac Med Mex**. v. 135, n. 1, p. 79-82, 1999.
- MORGAN, D. P, et al. Urinary excretion of paranitrophenol and alkyl phosphates following ingestion of methyl or ethyl parathion by human subjects. **Arch. Environ. Contam. Toxicol**. v. 6, p. 159-173, 1977.
- 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. **Ciência e saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v.7, n. 2, p. 299-311. 2002.

MOSER, M., et al. Placental failure and impaired vasculogenesis result in embryonic lethality for neuropathy target esterase-deficient mice. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 4, p. 1667-1679, 2004.

MÜLLER-VAHL, K. R.; KOLBE, H.; DENGLER, R. Transient severe parkinsonism after acute organophosphate poisoning. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 66, n. 2, p. 253-254, 1999.

MURRAY, V.S.; WISEMAN, H.M.; DAWLING, S. Health effects of organophosphate sheep dips. **Br Med J**, s.v.305, p.1090, 1992.

MURRAY, M. Altered CYP expression and function in response to dietary factors: potential roles in disease pathogenesis. **Curr Drug Metab**, v. 7, n. 1, p. 67-81, 2006.

MURPHY SD. **Toxic effects in pesticides**. En: Klaasen CD, Ambudur MO, Doull J, editors. Cassaret and Doull's Toxicology: the basic science of poisons. New York: Macmillan. p. 543-553, 1988.

MUTTRAY, A.; et al. External and internal exposure of winegrowers spraying methyl parathion. **Toxicology Letters**, v. 162, n. 2-3, p. 219-224, 2006.

MUTTRAY, A., et al. Acute effects of low doses of methyl parathion on human EEG. **Environ. Toxicol. Pharmacol**, v. 19, p. 477-483, 2005.

NAKATSUGAWA, T.; TOLMAN, N.M.; DAHM, P.A. Degradation and activation of parathion analogs by microsomal enzymes. **Biochem Pharmacol**, v. 17, n. 8, p. 1417-1428, 1968.

NARAVANENI, R.; JAMIL, K. Determination of AChE levels and genotoxic effects in farmers occupationally exposed to pesticides. **Human & Experimental Toxicology**, v. 26, p. 723-731, 2007.

NARAYANA, K. Methyl parathion induces the formation of symplasts by round spermatid fusion and alters the biochemical parameters in the testis. **Morphologie**, v. 91, n. 294, p. 173-179, 2007.

NARAYANA, K.; PRASHANTHI, N.; NAYANATARA, A.; KUMAR, H.H.; ABHILASH, K.; BAIRY, K.L. Neonatal methyl parathion exposure affects the growth and functions of the male reproductive system in the adult rat. **Folia Morphol (Warsz)**, v. 65, n. 1, p. 26-33, 2006.

NARAYANA, K.; PRASHANTHI, N.; NAYANATARA, A.; HARISH, H.; KUMAR, C. ABHILASH, K.; BAIRY, K.L. Effects of methyl parathion (O,O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate) on rat sperm morphology and sperm count, but not fertility, are associated with decreased ascorbic acid level in the testis. **Mutation Research**, v. 588, p. 28-34, 2005.

NARAYANA, K.; PRASHANTHI, N.; NAYANATARA, A.; BAIRY, L. K.; D'SOUZA, U.J.A. An organophosphate insecticide methyl parathion (O-O-demethyl O-4-Nitrofenyl phosphorothioate) induces cytotoxic damage and tubular atrophy in the testis despite elevated testosterone level in the rat. **The journal of Toxicology Science**, v. 31, n. 1, p.177-189, 2006.

NARAYANA, K. Effects of methyl parathion (*o,o*-dimethyl *o*-4-nitrophenyl phosphorothioate) on rat sperm morphology and sperm count, but not fertility, are associated with decreased ascorbic acid level in the testis. **Mutat Res**, v. 588, p. 28–34. 2005

NAYEEMUNNISA; BEGUM, S. Methyl parathion induced regional alternations in the regulatory proteins during critical stage of central nervous system development in albino rat pups. **Indian J. Physiol. Pharmacol**, v. 36, p. 77-82, 1992.

NEAL, R.A. Studies of the enzymic mechanism of the metabolism of diethyl 4-nitrophenyl phosphorothionate (parathion) by rat liver microsomes. **Biochem J.**, v. 105, n. 1, p. 289-297, 1967.

NEWCOMBE, D. Immune Surveillance, Organophosphorus Exposure, and Lymphomagenesis. **The Lancet**, v. 339, p. 539-541, 29 feb. 1992.

NEMERY, B.; ALDRIDGE, W.N. Studies on the metabolism of the pneumotoxin O,S,S-trimethyl phosphorodithioate--II. Lung and liver slices. **Biochem Pharmacol**, v. 37, n. 19, p. 3717-3722, 1988.

NIELSEN, P.; FRIIS, C.; GYRD-HANSEN, N.; KRAUL, I. Disposition of parathion in neonatal and young pigs. **Pharmacol Toxicol**, v. 69, n. 4, p. 233-237, 1991.

NORMAN, B.J.; VAUGHN, W.K.; NEAL, R.A. Studies of the mechanisms of metabolism of diethyl p-nitrophenyl phosphorothionate (parathion) by rabbit liver microsomes. **Biochem Pharmacol**, v. 22, n. 9, p. 1091-1101, 1973.

NORMAN, B.J.; NEAL, R.A. Examination of the metabolism *in vitro* of parathion (diethyl p-nitrophenyl phosphorothionate) by rat lung and brain. **Biochem Pharmacol**, v. 25, n. 1, p. 37-45, 1976.

OGI, D; HAMADA, A. Case reports on fetal deaths and malformations of extremities probably related to insecticide poisoning. **J Jpn Obstet Gynecol Soc.** v.17: p. 569, 1965.

OLIVEIRA, S. M., GOMES, T. C. C. Contaminação por agrotóxico em população de área urbana – Petrópolis, RJ. **Cad de Saúde Publica**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 18-26. 1990.

OLIVEIRA-SILVA, J. J; ALVES, S. R; DELLA-ROSA, H.V. Avaliação da exposição humana a agrotóxicos. In: PERES F, MOREIRA JC (org). **É veneno ou é remédio?** Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 121-136.

OLIVEIRA-SILVA, J.J. et al. Influence of socioeconomic factors on the pesticides poisoning, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo. v. 35, n. 02, p. 130-5, 2001.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE/ ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. OPAS/OMS. Representação do Brasil. Manual de vigilância da saúde de populações Expostas a agrotóxicos. Brasília, DF, 1996.

ORTIZ-PEREZ, E.; CIANZIO, S. R.; WILEY, H.; HORNER, H. T.; DAVIS, W. H.; PALMER, R. G. Insect-mediated crosspollination in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. I. **Agronomic performance. Field Crops Research**, v. 101, p. 259-268, 2007.

PALA, J., et al. *In vitro* effects of organophosphorus compounds on calmodulin activity. **J. Appl. Toxicol.** v. 11, p. 391-395, 1991.

PARKINSON, A. **Biotransformation of xenobiotics**. In: Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Ed: Klaassen CD. Mc Graw-Hill: 2001.

PASCHOAL, A. D. **Pragas, praguicidas e a crise ambiental**: problemas e soluções. Fundação Getúlio Vargas: Rio de Janeiro, 1979.

PARK, B. E.; LEE, T. P. Effects of Pesticides on Human Leukocyte Function. In: ASHER, L. M. (ed.). **Inadvertent Modification of the Immune Response**: The Effects of Foods, Drugs, and Environmental Contaminants-Proceedings of The Fourth FDA Science Symposium. Rockville: U.s. Food and Drug Administration, 1978. p. 273-274.

PASANG DHONDUP and BASAPPA BASAVANNEPPA KALIWAL. INHIBITION OF OVARIAN COMPENSATORY HYPERTROPHY BY THE ADMINISTRATION OF METHYL PARATHION IN HEMICASTRATED ALBINO RATS. *Reproductive Toxicology*, Vol. 1 I, No. I, pp. 77-84, 1997.

PEAKALL, T.J. ET AL. Organochlorine residues in Alaskan peregrines. **Pestic Monit J.** v. 8. p. 255-260.1975.

PEARCE, N.E., et al. Case-control study of multiple mydoma and farm ing. **British journal of cancer**, v. 54, p. 493-500, 1986.

PELEGRINO, J. R.; et al. Morphometric studies of specific brain regions of rats chronically intoxicated with the organophosphate methamidophos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 251-255, 2006.

PESTICIDE RESIDUES IN FOOD. **Parathion-methyl**. Evaluations. Part II. Toxicological & Environmental. 1995.

PETIT, F.; LE GOFF, P.; CRAVÉDI, J.P.; VALOTAIRE, Y.; PAKDEL, F. Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. **J Mol Endocrinol**, v. 19, n. 3, p. 321-335, 1997.

PIMENTEL, D. Green revolution agriculture and chemical hazards. **Science of the total environment**, Netherlands, v.188, n. 1, p. 86-98, set. 1996.

PIÑA-GUZMÁN, B.; SOLÍS-HEREDIA, M.J.; ROJAS-GARCÍA, A.E.; URIÓSTEGUI-ACOSTA, M.; QUINTANILLA-VEJA, B. Genetic damage caused by methyl-parathion in mouse spermatozoa is related to oxidative stress. **Toxicol Applied Pharmac**, v. 216, p. 216–224. 2006.

PIRES, D. X; CALDAS, E. D; RECENA, M. C.P. Uso de agrotóxicos e suicídios no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 2, n. 2, p. 598-605. 2005  
POORE, R.E.; NEAL, R.A. Evidence for extrahepatic metabolism of parathion. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 23, n. 4, p. 759-768, 1972.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Revista Biociências**, v. 6, n.2. 2000.

PRUETT, S. B., et al. Assessment of cholinergic influences on a primary humoral immune response. **Immunology**, v.77, p.428-435, 1992.

RADULOVIC, L.L.; KULKARNI, A.P.; DAUTERMAN, W.C. Biotransformation of methyl parathion by human foetal liver glutathione S-transferases: an *in vitro* study. **Xenobiotica**, v. 17, n. 1, p. 105-114, 1991.

RAO, P. Haematological Effects in Fishes from Complex Polluted Waters in Visakhapatnam Harbours. **Indian Marine Environmental Research**, v. 30, n. 30, p. 217-231, 1990.

RATTNER, B.A.; SILEO, L.; SCANES, C.G. Oviposition and the plasma concentrations of LH, progesterone and corticosterone in bobwhite quail (*Colinus virginianus*) fed parathion. **Reprod Fertil**, v. 66, n. 1, p. 147-155, 1982.

RAY, D. E. Chronic effects of low level exposure to anticholinesterases - a mechanistic review. **Toxicology Letters**, v. 102 -103, p. 527 – 533, 1998.

RAY, D. E.; RICHARDS, P.G. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. **Toxicology Letters**, v.120, n. 3, p. 343–351, 2001.

REHNER, T. A. e al. Depression among victims of south Mississippi's methyl parathion disaster. **Health & Social Work**, v. 25, n. 1, p. 33-40, 2000.

REPETTO, R.; BALIGA, S.S. Los plaguicidas y el sistema inmunitario: riesgos para la salud pública. **World Resources Institute**, 1996.

RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, E. K. Genética do Câncer humano. In: \_\_\_\_\_ **Mutagênese ambiental**. Canoas: Ed. ULBRA, 2003. Cap. 2, p. 29-48.

RISHER, J. F.; MINK, F. L.; STARA, J. F. The toxicologic effects of the carbamate insecticide aldicarb in mammals: a review. **Environmental Health Perspectives**, v. 72, p. 267-281, 1987.

ROBERTS, D.K.; SILVEY, N.J.; BAILEY-Jr., E. M. Brain acetylcholinesterase activity recovery following acute methyl parathion intoxication in two feral rodent species comparison to laboratory rodents. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 41, p. 26-35, 1988.

ROCH, P. & COOPER, E.L. Cellular but not humoral antibacterial activity of earthworms is inhibited by Aroclor 1254. **Ecotoxicology and Environmental Safety** v.22. p. 283-290, 1991.

RODGERS, K.; XIONG, S. Effect of administration of malathion for 14 days on macrophage function and mast cell degranulation. **Fundam Appl Toxicol**, v. 37, n. 1, p. 95-99, 1997.

RODGERS, K. E. The Immunotoxicity of Pesticides in Rodents. **Human and Experimental Toxicology**, v. 14, p. 111-113, 1995a.

ROZMAN, K.K.; KLAASSEN, C.D. **Absorption, distribution and excretion of toxicants**. In: Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Ed: Klaassen CD. Mc Graw-Hill: 2001.

\_\_\_\_\_. Investigations into the mechanism of immunocompetence caused by acute treatment with O,O,S-trimethyl phosphorothioate. II: Effect on the ability of murine macrophages to present antigen. **Immunopharmacology**, v. 10, p. 181-189, 1985b.

\_\_\_\_\_. Investigations into the mechanism of immunosuppression caused by acute treatment with *O,O,S-trimethyl* phosphorothioate. I: characterization of immune cell population affected. **Immunopharmacology**, v. 10, p. 171-180, 1985c.

RODVALL, Y., DICH, J., WIKLUND, K. Cancer risk in offspring of male pesticide applicators in agriculture in Sweden. **Occupational Environment Medicine**, Helsinki, v. 60, n. 10, p. 798-801, out. 2003.

ROMEIRO, A. R.; ABRANTES, F. J. Meio ambiente e modernização agrícola. **Revista Brasileira de Geografia**, Rio de Janeiro, ano 43, n.1, p. 3-45, jan.-mar. 1981.

ROSATI, J. L. R. et al. Intoxicação por carbamatos e organofosforados. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 69, n. 3, p. 73-97, set 1995.

ROSS, P. S. **Seals, Pollution, and Oisease: Environmental Contaminant-Induced Immunosuppression**. (1995). Dissertation (Ph.D.) - Universiteit Utrecht, Utrecht, Netherlands, 1995.

ROSS, P. S., et al. Contaminant-Related Suppression of Delayed Type Hypersensitivity and Antibody Responses in Harbor Seals Fed Herring from the Baltic Sea. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n.2, p. 162-167. 1995.

RUBIN, C et al. Assessment of human exposure and human health effects after indoor application of methyl parathion in Lorain county, Ohio, 1995–1996. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, s. 6, p. 1047-1051, 2002a.



RUBIN, C. et al. Introduction—The methyl parathion story: a chronicle of misuse and preventable human exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, s. 6, p. 1037-1040, 2002b.

SAADEH, A.M, et al. Clinical and socio demographic future of acute carbamate and organophosphate poisoning: a study of adult patients in North Jordan. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 34, p. 45-51, 1996.

SALAZAR-ARREDONDO, E.; SOLÝS-HEREDIAA, M. J.; ROJAS-GARCÝA, E. HERNANDEZ-OCHO, I. QUINTANILLA-VEJA, B.. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl-parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. **Reproductive Toxicology**, v. 25, p. 455–460, 2008.

SAMS, C.; MASON, H.J.; RAWBONE, R. Evidence for the activation of organophosphate pesticides by cytochromes P450 3A4 and 2D6 in human liver microsomes. **Toxicol Lett**, v. 116, n. 3, p. 217-221, 2000.

SUN, T.; MA, T. HO, I. K.: Differential modulation of muscarinic receptors in the rat brain by repeated exposure to methyl parathion. **The Journal of Toxicological Sciences**, v.28. n.5. p. 427-438, 2003.

SANGHI, R., et al. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in breast mil from Bhopal, Madhya Pradesh, India. **Human & Experimental Toxicology**, v. 22, p. 73-76, 2003.

SANTOS, V. M. R; DONNICI, C. L.; DACOSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de Preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p.159-170, 2007.

SCHANKER, H.M.; RACHELEFSKY, G.; SIEGEL, S.; KATZ, R.; SPECTOR, S.; ROHR, A.; RODRIQUIZ, C.; WOLOSHIN, K.; PAPANEK, P.J.JR. Immediate and delayed type hypersensitivity to malathion. **Ann Allergy**, v. 69, n. 6, p. 526-528, 1992.

SELGRADE, M. K. et al, Increased Susceptibility to Parathion Poisonning Following Immune Cytomegalovirus Infection. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 76, p. 356-364, 1984.

SELGRADE, M.K. Use of immunotoxicity data in health risk assessments: uncertainties and research to improve the process. **Toxicology**, v. 133, n. 1, p. 59-72, 1999.

SENANAYAKE, N.; JOHNSON, M. K. Acute Polyneuropathy after Poisoning by a New Organophosphate Insecticide. **The New England Journal of Medicine**, v. 306, p. 155-157, 1982.

SENANAYAKE, N.; KARALLIEDE, L. Neurotoxic Effects of Organophosphorus Insecticides. **N Engl J Med**, v. 316, n. 13, p. 761-63, 1987.

SENANAYAKE N; PEIRES H. Mortality due to poisoning in a developing agricultural country: trends over 20 years. **Hum Exp Toxicol**, v.14, p. 808-11, 1995.

SHEETS, L. P., et al. Subchronic neurotoxicity screening studies with six organophosphate insecticides: an assessment of behavior and morphology relative to cholinesterase inhibition. **Fundam Appl Toxicol**. v. 35, n. 1, p. 101-119, 1997.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO-FARMACOLÓGICAS. 2009. Disponível em < <http://www.fiocruz.br/sinitox>>. Acesso em 20 mai. 2009.

SIWICKI, A. K., et al. *In vivo* Effect of an Organophosphorus Insecticide. Trichlorfon on Immune Response of Carp (*Cyprinus carpio*): II. Effect of Trichlorfon on Nonspecific Immune Response in Carp (*Cyprinus carpio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 19, p. 98-105, 1990.

SLOTKIN, T.A.; BROWN, K.K.; SEIDLER, F.J. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos elicits sex-selective hyperlipidemia and hyperinsulinemia in adulthood. **Environ Health Perspect**, v. 113, p. 1291–1294, 2005.

SOLECKI, R.; FAQI, A.S.; PFEIL, R.; HILBIG, V. Effects of methyl parathion on reproduction in the Japanese quail. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 57, n. 6, p. 902-908, 1996.

SORTUR, S.M.; KALIWAL, B.B. Effect of methyl parathion formulation on estrous cycle and reproductive performance in albino rats. **Indian J Exp Biol**, v. 37, n. 2, p. 176-178, 1999.

SOTH T, HOSOKAWA M. Organophosphate and their impacts on the global environment. **Neurotoxicology**, v. 21, p.1-4. 2000.

SLAPPER, D.: Toxicity, organophosphate and carbamate. *eMedicine*. Updated 29 December 1999. Available [<http://members.aol.com/DonationDrive/OrganphosToxemedicine.html>].

SLOTKIN, T. A et al. Organophosphate insecticides target the serotonergic system in developing rat brain regions: disparate effects of diazinon and parathion at doses spanning the threshold for cholinesterase inhibition. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 10, p. 1542-1546, 2006.

SLOTKIN, T. A et al. J. Screening for developmental neurotoxicity using pc12 cells: comparisons of organophosphates with a carbamate, an organochlorine, and divalent nickel. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 1, p. 93-101, 2007.

SLOTKIN, T. A et al. Neonatal exposure to low doses of diazinon: long-term effects on neural cell development and acetylcholine systems. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 3, p. 340-348, 2008a.

SLOTKIN, T. A et al. Exposure of neonatal rats to parathion elicits sex-selective impairment of acetylcholine systems in brain regions during adolescence and adulthood. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 10, p. 1308-1314, 2008b.

SLOTKIN, T. A.; LEVIN, E. D.; SEIDLER, F. J. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: effects on brain development are separable from systemic toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 5, p. 746-751, 2006.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphates *in vivo*: transcriptional responses of pathways for brain cell development, cell signaling, cytotoxicity and neurotransmitter systems. **Brain Res Bull**, v. 72, n. 4-6, p. 232-274, 2007.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J.; FUMAGALLI, F. Exposure to organophosphates reduces the expression of neurotrophic factors in neonatal rat brain regions: similarities and differences in the effects of chlorpyrifos and diazinon on the fibroblast growth factor superfamily. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 6, 2007.

SOARES, W; ALMEIDA, R. M. V. R; MORO, S. Trabalho rural e fatores de risco associados ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 19, p. 1117-27. 2003.

SOBREIRA, A.G.P.; ADISSI P.J. Agrotóxicos: falsas premissas e debates. **Ciência & Saúde Coletiva** v. 8, n. 4, p. 985-90, 2003.

STODDART, J. F. **Comprehensive Organic Chemistry**: the synthesis and reaction of organic compounds. 6. ed. Pergamon Press: Oxford, c1979.

SOLECKI, R.; FAQI, A. S.; PFEIL, R.; HILBIG, V. Effects of Methyl Parathion on Reproduction in the Japanese Quail. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**,v. 57,p. 902-908, 1996.

SORTUR, S. M.; KALIWAL, B. B. Effect of methyl parathion formulation of estrous cycle and reproductive performance in albino rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 3, n.2,p. 176-178,1999.

STOKES, L et al. Neurotoxicity among pesticide applicators exposed to organophosphates. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 52, p. 648-653, 1995.

STOLEN, J. S., FLETCHER, T. C. (Eds.). **Modulators of fish immune responses: Models for Environmental Toxicology/Biomarkers**. Immunostimulators. v. 1, SOS Publications, Fair Haven, NY. 1994. p. 33-48.

SULTATOS, L.G. The role of the liver in mediating the acute toxicity of the pesticide methyl parathion in the mouse. **Drug Metab Dispos**, v. 15, n. 5, p. 613-617, 1987.

SULTATOS, L.G.; MURPHY, S.D. Kinetic analyses of the microsomal biotransformation of the phosphorothioate insecticides chlorpyrifos and parathion. **Fundam Appl Toxicol**, v. 3, n. 1, p. 16-21, 1983.

SUN, T-T.; IAN A.; PAUL e ING K.H. Motor functions but not learning and memory are impaired upon repeated exposure to sub-lethal doses of methyl parathion. *Journal of Biomedical Science*, v. 13, p.515–523, 2006.

SVED, D. W. A study to determine the urinary elimination of para-nitrophenol and its conjugates following dermal exposure of rats to methyl parathion. WIL Research Laboratories, Inc. No. WIL-157018, **DPR** v. 121-136, n. 188727, 2001

SWAN et al. 2003. Semen Quality in Relation to Biomarkers of Pesticide Exposure. **Environ Health Perspect.** v. 111, p. 1478–1484. 2003.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiol Res**, v. 50, n. 6, p. 537-546, 2001.

TANG, J.; CARR, R. L.; CHAMBERS, J. E. The effects of repeated oral exposures to methyl parathion on rat brain cholinesterase and muscarinic receptors during postnatal development. **Toxicol. Sci.** v. 76, p. 400-406, 2003.

THRASHER, J.D.; MADISON, R.; BROUGHTON, A. Immunologic abnormalities in humans exposed to chlorpyrifos: preliminary observations. **Arch Environ Health**, v. 48, n. 2, p. 89-93, 1993.

THOMPSON, E.A.JR.; SIITERI, P.K. Partial resolution of the placental microsomal aromatase complex. **J Steroid Biochem**, v. 7, n. 9, p. 636-639, 1976.

THOMPSON, B et al. Para niños saludables: a community intervention trial to reduce organophosphate pesticide exposure in children of farmworkers. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 5, 2008.

TOXICOLOGICAL PROFILE FOR METHYL PARATHION - U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Public Health Service. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**. September, 2001.

TOY, D. F. **Phosphorus Chemistry in Everyday Living**: Americam Chemical Society, Washington, D. C., 1976.

TYNDALL, R.L.; DANIEL, J.C. JR. Alterations in uterine and serum esterases in pregnant mammals. **Fertil Steril**, v. 26, n. 11, p. 1098-1104, 1975.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (UNEP/FAO). Decision guidance documents: methamidophos. Operation of the prior informed consent procedure for banned or severely restricted chemicals in international trade. Rome, 1996.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (UNEP/FAO). **Inclusion of chemicals in Annex III** of the Rotterdam Convention: review of notifications of final regulatory actions to ban or severely restrict a chemical: methyl parathion. FAO /RC/CRC.1/19/Add.4. Item 7(f) of

the provisional agenda. Geneva, 11–18 February 2005. Disponível em: <<http://www.pic.int/incs/crc1/s19add4/English/CRC%201-19-Add4%20methyl%20parathion%20EC.pdf>> . Acesso em: 21 maio de 2009.

U.S. EPA. Methyl Parathion, Receipt of Requests for Cancellation; Cancellation Order. Fed Reg 64 (207):57877–57881 (1999).

U.S. PUBLIC HEALTH SERVICE. Hazardous Substance Data Bank. Washington, DC, 1995.5-9.

U.S. EPA. Methyl Parathion After-action Report. EPA 540- R-98-018. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1998.

U.S. EPA. Clarification to the 1994 Revised Interim Soil Lead Guidance for CERCLA Sites and RCRA Corrective Action. EPA 540-F-98-030. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1998.

U.S. EPA. Methyl Parathion Health Sciences Steering Committee. A Proposal for *para*-Nitrophenol Monitoring in Urine to Track Exposure to Methyl Parathion. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1997.

U.S. EPA. Guidance for the Reregistration of Pesticide Products Containing Methyl Parathion. EPA Case Number 153. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1986

U.S. EPA. Risk Assessment Guidance for Superfund. Human Health Evaluation Manual, Part A. EPA 540-1-89- 002. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1989.

U.S. EPA. Methyl Parathion After-action Report. EPA 540- R-98-018. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1998.

U.S. EPA. Subchronic Reference Dose for Methyl Parathion. Washington, DC:U.S. Environmental Protection Agency, 1986.

VIDAIR, C. A. Age dependence of organophosphate and carbamate neurotoxicity in the postnatal rat: extrapolation to the human. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 196, p. 287-302, 2004.

VIEIRA, E. M. et al. Estudo da adsorção/desorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Química Nova**, v. 22, p. 305-308, 1999.

VILLENEUVE, D. C., et al. Placental transfer of <sup>14</sup>C-parathion administered intravenously to sheep. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 21, p. 542–548, 1972.

VOCCIA, I.; BLAKLEY, B.; BROUSSEAU, P.; FOURNIER, M. Immunotoxicity of pesticides: a review. **Toxicol Ind Health**. v. 15, n. 1-2, p. 119-32, 1999.

WAGNER, E.D., MARENGO, M. S., PLEWA, M.J. Modulation of the mutagenicity of heterocyclic amines by organophosphate insecticides and their metabolites. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 536, p. 103-115. 2003.

WAICHMAN, A. V. Uma proposta de avaliação integrada de risco do uso de agrotóxicos no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 38, n. 1, p. 45-51, 2008.

WESSELING, C. et al. Long-term neurobehavioral effects of mild poisonings with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. **Int J Occup Environ Health**, v.8, p. 27-34, 2002.

WESSELS, D.; BARR, D. B.; MENDOLA, P. Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: implications for a longitudinal study of children's environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 16, p. 1939-1946, 2003.

WESTER, R. C., et al. Percutaneous absorption of Diazinon in humans. **Food Chem. Toxicol.** v. 31, p. 469-572, 1993.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION PUBLIC HEALTH. Methyl Parathion Health and Safety Guide No. 75, World Health Organisation, Geneva, 1992. Disponível em: [http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg75\\_e.htm](http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg75_e.htm). Acesso em 5/6/2009.

World Health Organization (WHO), International Programme on Chemical Safety (IPCS). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 1990-1991 [on-line]. Geneva; 1990a. Disponível em: [http://whqlibdoc.who.int/hq/1990/WHO\\_PCS\\_90.1\\_REV.1.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1990/WHO_PCS_90.1_REV.1.pdf)

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION PUBLIC HEALTH. **Impact of Pesticides Used in Agriculture**. World Health Organization and United Nations of Environmental Programme, Geneva, 1990b.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Programme on Chemical Safety Organophosphorus Insecticides: a General Introduction. Geneva. C.H: WHO. ILO (Environmental Health Criteria; 63) 1986.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION PUBLIC HEALTH.. Technical Report Series No. 720, 1985 (Safe use of pesticides: ninth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control).

WILLIAMS, M. W., et al. The subacute toxicity of four organic phosphates to dogs. **Toxicol. appl. Pharmacol.**, v. 1. p. 1-7. 1959.

WILSON, D. F, et al: Effect of exogenous surfactant (calfactant) in pediatric acute lung injury. A randomized controlled trial. **JAMA**, v. 293, p.:470-476.

WOODRUFF, TJ et al. Proceedings of the Summit on environmental challenges to reproductive health and fertility: executive summary. **Fertil Steril**. v. 89, n. 2, p. 281-300, 2008.

WOODRUFF, T, WOLFF, M.S., DAVIS, D.L. Y HAYWARD, D. Organochlorine exposure estimation in the study of cancer etiology. **Environ. Res.**, v.65, p. 132-144, 1994.

WOODWELL, GM; WURSTER, CF, JR Y ISAACSON, PA.DDT Residues in an east coast estuary: a case of biological concentration of a persistent insecticide. **Science**, **156 p. 821. 1967.**

YAMAMOTO, T., et al. Comparison of the effect of an equimolar and low dose of fenitrothion and methylparathion on their own metabolism in rat liver. **J Toxicol Sci**, v. 7, n. 1, p. 35-41. 1982.

YOUSSEF, S., et al. Influence of gentamicin and rifamycin on toxicity and biotransformation of methyl parathion in rats. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, n. 94, p. 203-205, 1987.

YUCRA S et al. Semen quality in Peruvian pesticide applicators: association between urinary organophosphate metabolites and semen. **Environmental Health**. v. 7, p. 59-69, 2008.

YUCRA S et al. Dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus in applicators of agricultural pesticides in Majes Arequipa (Peru). **J Occup Med Toxicol**. v. 1, p. 27, 2006.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. Editora Rima, São Carlos, SP. 2006. 478 p.

ZEEMAN, M. G.; BRINDLEY, W. A. Effects of Toxic Agents Upon Fish Immune Systems: A Review. In: SHARMA, R. P. (ed.). **Immunological Considerations in Toxicology**: v. 11. Florida: CRC Press, 1981. p.1-60.

ZELICOFF, J. T. Fish Immunotoxicology, In: Dean, J. H.; Luster, M. I.; Munson, A. E.; KIMBER, I. (eds.). **Immunotoxicology and Immunopharmacology**. 2. Ed. Nueva York: Raven Press, 1994. p.71-95.

ZHU, H. et al. Effects of single or repeated dermal exposure to methyl parathion on behavior and blood cholinesterase activity in rats. **Journal of Biomedical Science**, v. 8, p. 467-474, 2001.