

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE E TECNOLOGIAS
SUSTENTÁVEIS

CARINE KUPSKE

EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM
AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS

CERRO LARGO

2018

CARINE KUPSKE

**EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM
AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Linha de pesquisa: Qualidade Ambiental

Orientadora: Prof^(a). Dr^(a). Lauren Lúcia Zamin

Co-orientadora: Prof^(a). Dr^(a). Suzymeire Baroni

CERRO LARGO

2018

PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas

KUPSKE, CARINE

EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM
AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS:
EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM
AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS/
CARINE KUPSKE. -- 2018.

95 f.

Orientador: LAUREN LÚCIA ZAMIN.

Co-orientador: SUZYMEIRE BARONI.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Mestrado em
Ambiente e Tecnologias Sustentáveis - PPGATS, Cerro
Largo, RS, 2018.

1. GLIFOSATO. 2. CÂNCER. 3. AGRICULTORES FAMILIARES.
I. ZAMIN, LAUREN LÚCIA, orient. II. BARONI, SUZYMEIRE,
co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul.
IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CARINE KUPSKE

**EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM
AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul – *Campus* Cerro Largo como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis.

Área de concentração: Monitoramento, Controle e Gestão Ambiental.

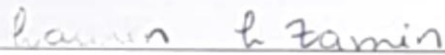
Linha de pesquisa: Qualidade Ambiental.

Orientadora: Prof^(a). Dr^(a). Lauren Lúcia Zamin

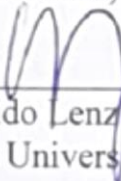
Co-orientadora: Prof^(a). Dr^(a). Suzymeire Baroni

Esta dissertação foi defendida e aprovada pela banca em: 29/03/2018

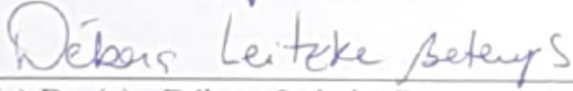
BANCA EXAMINADORA:



Prof.(a) Dr. (a): Lauren Lúcia Zamin
Universidade: Universidade Federal da Fronteira Sul
(Presidente da Banca)



Prof. Dr.: Guido Lenz
Universidade: Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Prof.(a) Dr. (a): Débora Leitzke Betemps
Universidade: Universidade Federal da Fronteira Sul

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.”

Cora Coralina

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.”

Eleanor Roosevelt

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me guiar e me fazer trilhar caminhos que jamais imaginei seguir; por me dar forças mesmo em meio às adversidades. Grata a ti, meu Deus, por tantas conquistas!

A Universidade Federal da Fronteira Sul, pela oportunidade ofertada.

Aos técnicos e colegas de laboratório pela ajuda prestada.

À professora Dr^(a). Lauren Lúcia Zamin, pela orientação e principalmente, pela paciência e disponibilidade em me guiar para a execução deste trabalho.

A professora Dr^(a) Suzymeire Baroni, pela co-orientação, paciência, disponibilidade, conselhos e amizade.

Aos tantos bons mestres com quem puder aprender durante esta trajetória, agradeço por todos os ensinamentos.

Aos meus pais, pela vida e incentivo aos estudos.

Ao meu noivo, Juliano, pelo companheirismo, compreensão e incentivo que me deste durante todo o mestrado.

Aos meus irmãos pelo apoio no decorrer do mestrado.

E por fim, aos trabalhadores rurais que participaram da pesquisa, pela disposição em me receberem em suas casas, tanto para a entrevista como para a coleta da mucosa bucal, sem a participação de cada um de vocês este trabalho não poderia ter sido realizado.

RESUMO

A presente pesquisa fez uso de entrevistas com agricultores familiares do município de Cerro Largo, RS e coleta de células da mucosa bucal destes agricultores para análise de micronúcleos, tendo por objetivo analisar possíveis indícios que demonstrem a relação da exposição ao herbicida glifosato e a incidência de neoplasias em agricultores deste município. A pesquisa foi composta de duas etapas, sendo a primeira delas a aplicação de um questionário semiestruturado, onde foram sorteadas 6 comunidades e entrevistados 20 agricultores de cada comunidade, totalizando 120 agricultores. A segunda etapa foi a realização da coleta de mucosa bucal de 10 agricultores para o caso controle e 10 para o teste. Os dados obtidos a partir da aplicação do questionário foram analisados pelo teste Qui-Quadrado, utilizando um intervalo de confiança de 95%. Os resultados da frequência de micronúcleos e variáveis foram analisados por meio do teste estatístico Kruskal Wallis grau de significância de 5%. Conforme apontam os resultados, os entrevistados possuem idade elevada, 74 indivíduos possuem 51 anos ou mais e apenas 21 estão na faixa etária entre 20 - 40 anos. Quanto ao grau de instrução, 60% possui apenas ensino primário. Em relação ao uso do glifosato, 62,5% afirmaram utilizá-lo, principalmente nas culturas de soja e milho, sendo que, 26,66% utilizam o mesmo entre 5-10 anos. 37,33% dos agricultores ficam expostos entre 30 minutos a uma hora a cada aplicação. Em relação aos casos de câncer na família, 62 agricultores (51,66%) relataram que já tiveram ou tem casos de câncer em suas famílias. A associação entre a faixa etária e a utilização do glifosato não foi significativa ($p=0,12$), assim como não foi significativa ($p=0,06$) a associação entre a faixa etária e os casos de câncer, entre os casos de câncer e a utilização do glifosato ($p=0,51$) e a associação entre os casos de câncer com o tempo de utilização do glifosato ($p=0,56$). Com base nos dados das entrevistas constatou-se que os agricultores estão em constante risco a sua saúde, porque foram evidenciados inadequabilidade das normas de uso seguro do herbicida glifosato, além do próprio desconhecimento da periculosidade deste agrotóxico por parte dos agricultores. O teste de micronúcleo tem sido muito utilizado para avaliar mutagenicidade causado por agroquímicos. Neste estudo o teste foi utilizado para determinar os efeitos genotóxicos provocados pelo glifosato, demonstrando que a exposição ao herbicida glifosato aumentou a frequência de micronúcleo no grupo teste ($p=0,0002$), bem como aumentou a frequência de outras alterações celulares de forma altamente significativa, tais como brotos celulares ($p=0,001$), binucleação ($p=0,0001$), cariólise ($p=0,0004$), apenas não houve diferença significativa na alteração celular cariorrexe ($p=0,131$). Este estudo contribuiu para o reconhecimento da existência de fatores de risco associado ao uso do glifosato à saúde dos trabalhadores rurais deste município, ou seja, o uso do herbicida glifosato pode estar sendo capaz de provocar danos ao epitélio da mucosa bucal e este responde de forma adaptativa por meio de modificações celulares.

Palavras – chave: Agrotóxicos. Herbicida. Trabalhadores Rurais. Câncer.

ABSTRACT

The present research made use of interviews with family farmers in the municipality of Cerro Largo, RS and the collection of oral mucosa cells from these farmers for the analysis of micronuclei, with the objective of analyzing possible evidence that shows the relationship between glyphosate herbicide exposure and the incidence of neoplasias in farmers in this municipality. The research was composed of two stages, the first one being the application of a semi-structured questionnaire, where 6 communities were randomly selected and 20 farmers from each community were interviewed, totaling 120 farmers. The second stage was the collection of buccal mucosa from 10 farmers for the control case and 10 for the test. The data obtained from the application of the questionnaire were analyzed by the Chi-Square test, using a 95% confidence interval. The results of the micronuclei and variable frequencies were analyzed using the Kruskal-Wallis statistical test with a significance level of 5%. As the results indicate, the interviewees are of high age, 74 individuals are 51 years old or more and only 21 are in the age group between 20-40 years old. Regarding the level of education, 60% have only primary education. In relation to the use of glyphosate, 62.5% reported using it, mainly in the soybean and corn crops, and 26.66% used it between 5-10 years. 37.33% of the farmers are exposed between 30 minutes to one hour each application. Regarding the cases of cancer in the family, 62 farmers (51.66%) reported that they have had or have cases of cancer in their families. The association between age and use of glyphosate was not significant ($p = 0.12$), as well as the association between age and cancer cases was not significant ($p = 0.06$), between the cases of cancer and the use of glyphosate ($p = 0.51$) and the association between the cancer cases and the time of use of glyphosate ($p = 0.56$). Based on the interview data, it was found that farmers are at constant risk to their health, because they showed inadequacy of the rules of safe use of glyphosate herbicide, besides to the lack of knowledge about the dangerous nature of this pesticide by farmers. The micronucleus test has been widely used to evaluate the mutagenicity caused by agrochemicals. In this study the test was used to determine the genotoxic effects caused by glyphosate, demonstrating that exposure to the glyphosate herbicide increased the Micronucleus frequency in the test group ($p = 0.0002$), as well as highly significant increased frequency of cellular changes such as broken egg ($p = 0.001$), binucleation ($p = 0.0001$), caryolysis ($p = 0.0004$), there was only no significant difference in the cellular alteration of the karyorrhexis ($p = 0.131$). This study contributed to the recognition of the existence of risk factors associated with the use of glyphosate on the health of the rural workers of this municipality, that is, the use of the glyphosate herbicide may be capable of causing damage to the oral mucosa epithelium, adaptive via cellular modifications.

Keywords: Agrochemicals. Herbicide. Rural Workers. Cancer.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos agrotóxicos quanto ao seu grau de toxicidade.....	22
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do Glifosato.....	20
Figura 2 - Câncer benigno versus câncer maligno	23
Figura 3 - Capacidades adquiridas pelo câncer	24
Figura 4 - Formação de Micronúcleo	27

.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DATASUS: Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde

DNA: Ácido Desoxirribunucleico

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPIs: Equipamentos de Proteção Individual

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MN: Micronúcleo

OMS: Organização Mundial da Saúde

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 HIPÓTESE	16
1.2 OBJETIVOS	16
1.2.1 Objetivo Geral	16
1.2.2 Objetivos específicos	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 AGROTÓXICOS: DEFINIÇÃO, LEGISLAÇÃO E POSSÍVEIS RISCOS.....	17
2.1.1 Glifosato: Caracterização química e propriedades físicas – químicas	19
2.1.2 Ação do herbicida	21
2.1.3 Toxicidade do Glifosato	21
2.1.4 Periculosidade ambiental	22
2.2 CÂNCER	22
2.3 RELAÇÃO ENTRE A INCIDENCIA DE CÂNCER E A EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO	25
2.4 MICRONÚCLEOS	26
2.5 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO	28
2.6 COMITE DE ÉTICA	29
3 RESULTADOS	30
3.1 ESTUDO I	31
3.2 ESTUDO II.....	57
4 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	77
ANEXOS	82

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 40 anos o uso de agrotóxicos tem se difundido de forma muito intensa na agricultura (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2017). O Brasil se tornou um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo, sendo que há três anos ocupa o primeiro lugar no *ranking* de consumo de agrotóxicos mundial. No Rio Grande do Sul o uso de agrotóxicos chega a quase o dobro da média nacional (CARNEIRO, 2015).

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais (IBAMA, 2017) também alerta sobre o aumento elevado no consumo anual de agrotóxicos no Brasil. Segundo dados deste instituto, as vendas de agrotóxicos tiveram crescimento de 194,09% entre os anos de 2000 a 2012, totalizando 477.792,44 toneladas de ingredientes ativos comercializados no ano de 2012. Constata-se que houve um aumento no consumo de agrotóxicos de aproximadamente 700% nos últimos 40 anos, enquanto a área agrícola aumentou apenas 78% nesse mesmo período, ou seja, o aumento nas vendas de agrotóxicos não foi correspondente ao aumento de áreas plantadas. Este fato traz preocupações quanto a ampliação, o uso e as implicações da utilização de agrotóxicos (AGEITEC, 2016).

O estado do Rio Grande do Sul destaca-se quanto ao uso de agrotóxicos, estando na quarta posição no *ranking* dos estados que mais comercializam agrotóxicos no país, totalizando 46.778,99 toneladas de ingredientes ativos comercializados em 2012 (IBAMA, 2017). O Centro de Vigilância em Saúde da Secretaria da Saúde do estado do Rio Grande do Sul (RIO GRANDE DO SUL, 2008) realizou um levantamento do uso e da criticidade dos agrotóxicos por bacia hidrográfica e apontou que o uso destes pode variar entre 703,29 a 874,65 L/km²/ano na região onde localiza-se o município de Cerro Largo (49% de seu território) (PEREIRA, 2014).

Dentre os agrotóxicos mais consumidos hoje no Brasil e no Rio Grande do Sul encontra-se o herbicida glifosato (ZIMMERMANN, 2009). O crescente aumento no consumo de agrotóxicos, e principalmente do herbicida glifosato, está ocorrendo especialmente devido ao incremento das sementes transgênicas. Estas sementes são geneticamente modificadas, isto é, resultam da combinação de materiais genéticos, originando uma nova forma, com

características diversas das dos organismos originais envolvidos no experimento. O desenvolvimento das sementes transgênicas, iniciado na segunda metade do século XX, visava desenvolver organismos mais tolerantes a herbicidas e resistentes a insetos, com os quais se obteria maior produtividade e se teria condições de resolver o problema da fome no mundo, promessa que, entretanto, não se concretizou (ZIMMERMANN, 2009).

Muitas sementes transgênicas possuem a tolerância ao herbicida glifosato e, desta forma, os agricultores podem realizar a dessecação pós-plantio para o controle de plantas daninhas sem prejudicar sua cultura. Este fato justificaria o aumento expressivo no uso deste herbicida na agricultura tornando, o agrotóxico utilizado em maior quantidade no Brasil em 2013 (ZIMMERMANN, 2009).

O uso exacerbado de agrotóxicos nos processos de produção agrícola levou ao contato, direto ou indireto, do ser humano com estes agentes químicos. Esse contato está relacionado com a exposição ocupacional, a ingestão de produtos expostos aos agroquímicos e à contaminação da biota de áreas próximas a plantações agrícolas. Desse modo, houve o desequilíbrio do ecossistema, o qual causou o desenvolvimento de diversas doenças aos habitantes dessas regiões onde a aplicação de agrotóxicos é elevada (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003). Muitos autores afirmam, a partir de seus estudos, que a incidência de câncer de próstata, mama e ovário (KOIFMAN; KOIFMAN; MEYER, 2002), o aumento de células micronucleadas (MN), alterações celulares (FENECH, 2000), o desenvolvimento de doenças neurológicas, renais, respiratórias e hepáticas (LONDRES, 2011) é maior em agricultores do que na população geral, o que provavelmente está associado à utilização crescente de agrotóxicos pelos mesmos. Dessa forma, as enfermidades causadas pela exposição aos agroquímicos caracterizam um grande problema de saúde pública (RIO GRANDE DO SUL, 2008).

Na região Noroeste do estado do Rio Grande do Sul estudos já vêm sendo desenvolvidos com o intuito de demonstrar os efeitos crônicos do uso/exposição prolongados dos mais diversos agroquímicos. Um destes estudos é de Jobim e colaboradores (2010), que consideraram o uso crônico de agrotóxicos no Rio Grande do Sul. Estes pesquisadores realizaram estudo ecológico na microrregião de Ijuí, RS, com dados do DATASUS – Sistema do

Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde, para o período de 1979 a 2003 e constataram que há relação entre áreas cronicamente expostas a agrotóxicos e maior prevalência de neoplasias nesta microrregião.

Outro importante estudo nesta região é de Ubessi e colaboradores (2015). Este estudo envolveu 434 agricultores do Noroeste do Rio Grande do Sul, onde foi constatado que, independente da frequência do uso de medidas de proteção, ocorreram problemas de saúde entre os agricultores, evidenciando possível intoxicação crônica, que conseqüentemente pode acarretar em neoplasias.

Uma técnica que está sendo empregada para determinar efeitos genotóxicos provocados por agroquímicos é o teste de micronúcleo (MN). Este teste detecta danos nos cromossomos e alterações no ciclo celular em organismos expostos aos mesmos (ALBERTINI et al., 2000; DUTRA, 2002). MN é classificado como uma pequena massa de cromatina encontrada fora do núcleo originada a partir da quebra de cromossomos na fase da mitose (FENECH, 2007).

Trabalhos como os citados acima são de fundamental importância, visto que, trazem um panorama geral da saúde dos agricultores que estão em regiões onde a exposição a agroquímicos é constante. Diante deste contexto propomos também investigar se há relação entre o uso de agrotóxicos, como o glifosato, e a incidência de neoplasias nos agricultores em um dos municípios que se localiza na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul (Cerro Largo), por meio de uma entrevista semiestruturada e a análise de mucosa bucal pelo teste de MN.

1.1 HIPÓTESE

A exposição contínua e sem a devida segurança ao herbicida glifosato pode estar relacionada com a incidência de câncer e outras alterações genéticas em agricultores expostos a este herbicida.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

- Analisar possíveis indícios que demonstrem a relação da exposição ao herbicida glifosato e a incidência de neoplasias em agricultores do município de Cerro Largo, RS.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o dano genético através da técnica de micronúcleos na mucosa bucal, do grupo controle e do grupo teste;
- Avaliar o perfil sociodemográfico dos agricultores entrevistados por meio de um questionário semiestruturado;
- Avaliar a possível relação entre a exposição ao herbicida glifosato e a incidência de câncer;
- Verificar as possíveis alterações celulares na mucosa bucal dos agricultores expostos ao herbicida glifosato;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AGROTÓXICOS: DEFINIÇÃO, LEGISLAÇÃO E POSSÍVEIS RISCOS

Atualmente a agricultura vem ocupando lugar de destaque na economia do país. Este fato ocorre principalmente por causa da modernização da agricultura que foi propagada no Brasil desde a metade do século XX (mais especificamente na década de 60) com o intuito de aumentar a produção e a produtividade de culturas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Esta política agrícola de modernização no campo adotada pelos governos brasileiros é denominada “revolução verde” e baseia-se na monocultura e no incentivo cada vez maior do uso de agrotóxicos nas culturas para manter e melhorar a produtividade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Como forma de incentivar o uso de agrotóxicos e auxiliar as indústrias que os produzem, o governo brasileiro criou em 1975 o “Plano Nacional de Desenvolvimento Agrícola” que impôs ao agricultor, por ocasião da obtenção do “crédito rural”, o condicionamento à compra de agrotóxico em cada financiamento requerido. Essa política induziu o crescimento da indústria de síntese desses compostos e a dependência destes na produção agrícola (FERREIRA, 1999). Além de incentivar o uso, o plano de desenvolvimento brasileiro também alicerçou as indústrias de fabricação de insumos agrícolas na década de 1970 com a isenção de impostos (IPI, PIS/PASEP, COFINS e ICMS), os quais perduram até os dias de hoje (IBAMA, 2017).

Segundo a Lei Federal nº 7.802 de 11/07/1989 (BRASIL, 1989), agrotóxicos são definidos por esta Lei Federal e regulamentados pelo Decreto 4.074 de 4 de janeiro de 2002, como:

(...) produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.

Existem algumas normativas de regulação dos agrotóxicos, sendo que a principal normativa é a Lei Federal nº. 7.802, de 11 de julho de 1989, que

dispõe sobre a pesquisa, experimentação, produção, embalagem, transporte, rotulagem, armazenamento, propaganda, comercialização, utilização, fiscalização entre outros aspectos. Esta é regulamentada pelo Decreto 4.074 de janeiro de 2002.

Segundo estas legislações, compete aos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Meio Ambiente e Saúde estabelecerem diretrizes e exigências visando diminuir os riscos apresentados por agrotóxicos e seus componentes (BRASIL, 2002).

Conforme o Decreto 4.074/2002, compete:

- Ao MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - avaliar a eficiência agrônômica dos agrotóxicos e afins para os setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas e conceder o registro de agrotóxicos para estes mesmos setores, desde que atendidas às exigências dos Ministérios da Saúde e Meio Ambiente;

- Ao Ministério da Saúde - avaliar e classificar a toxicidade dos agrotóxicos e afins, avaliar a eficiência de agrotóxicos utilizados em ambientes urbanos, conceder o registro de agrotóxicos destinados a ambientes urbanos, domiciliares ou industriais, públicos ou coletivos, para uso em campanhas de saúde pública ou ao tratamento de água, desde que atendidas as diretrizes dos Ministérios da Agricultura e Ambiente; e monitorar os resíduos de agrotóxicos em produtos de origem animal;

- Ao Ministério do Meio Ambiente - avaliar a eficiência dos agrotóxicos e afins para uso em ambientes hídricos, para proteção de florestas nativas e ecossistemas, realizar a avaliação ambiental quanto ao potencial de periculosidade ambiental dos agrotóxicos e dos produtos utilizados especialmente à pesquisa e à experimentação, e conceder o registro dos agrotóxicos destinados ao uso em ambientes hídricos, para proteção de florestas nativas e ecossistemas, desde que respeitadas as exigências dos Ministérios da Saúde e do MAPA (BRASIL, 2002).

Conforme nos relata Londres (2011), sempre que um novo agrotóxico é lançado no mercado, o mesmo precisa obter um registro. Tal registro precisa ser solicitado pela empresa fabricante do agroquímico, apresentando estudos que comprovem a sua eficácia e segurança aos três ministérios supracitados. Os ministérios avaliam e confrontam os estudos apresentados com a literatura

científica, porém não realizam novos estudos. Caso no momento do encaminhamento do registro nenhum ministério tiver evidências de que o produto seja ineficaz ou resulte em riscos à saúde ou ao ambiente ou que não exista nenhum produto similar menos tóxico, então ele é encaminhado para registro, sendo que o registro é por tempo indeterminado. Esta metodologia pode, por vezes, ser negativa, pois somente anos ou até décadas depois do registro/liberação do agroquímico é que os efeitos negativos dos mesmos serão percebidos e reavaliados pelos ministérios supracitados.

Diante de todo este contexto do incentivo constante da utilização de agrotóxicos para aumentar a produção, hoje, o Brasil é considerado um dos países que mais utiliza agrotóxicos no mundo, sendo que um dos agrotóxicos mais utilizados na agricultura, de acordo com vários estudos, é o herbicida glifosato (YAMADA; CASTRO, 2007).

O Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit) também reafirma que dentre os dez agrotóxicos mais consumidos no Brasil, por princípio ativo, no ano de 2013, o glifosato aparece na primeira posição. O glifosato é um herbicida amplamente utilizado na agricultura brasileira e recentemente foi classificado como provavelmente cancerígeno para humanos (Grupo 2A) pela *International Agency for Research on Cancer (IARC)* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; BLAIR et al., 2015). Em outras palavras, existe uma evidência limitada de carcinogenicidade em humanos e há evidências suficientes de que o glifosato pode causar câncer em animais de laboratório (GUYTON et al., 2015).

Em virtude destes efeitos prejudiciais à saúde humana, o herbicida glifosato foi proibido no Sri Lanka, além da associação do uso do produto com o número crescente de doença renal crônica (GREENPEACE, 2014).

Como já existem diversos estudos relatando os efeitos prejudiciais de diversos agrotóxicos, entre eles o herbicida glifosato, é preciso que seja revista a legislação quanto ao registro destes agroquímicos, e de forma mais urgente, é preciso que muitos agrotóxicos passem por uma reavaliação quanto a sua toxicidade para evitar prejuízos ainda maiores para a saúde dos trabalhadores rurais que estão em contato direto com tais agroquímicos.

2.1.1 Glifosato: Caracterização química e propriedades físicas – químicas

O glifosato (N-fosfometil glicina), cuja fórmula estrutural é mostrada na Figura 1, pertence à classe dos organofosforados (COUTINHO; MAZO, 2005).

Este herbicida é o princípio ativo de alguns dos agrotóxicos mais utilizados a nível mundial. A molécula de glifosato foi sintetizada pela primeira vez em 1950 como uma substância farmacêutica em potencial por Henri Martin, mas a sua atividade herbicida foi descoberta apenas em 1970 por John E. Franz, cientista da Companhia Monsanto. Em 1974, o glifosato foi patenteado pela Monsanto para uso como herbicida com o nome comercial de Roundup® (WILLIAMS; KROES; MUNRO, 2000).

O herbicida glifosato pertence ao grupo químico dos aminoácidos fosfonatos e tal como seu precursor, a glicina, apresenta comportamento zwitteriônico, com separação de duas cargas em pH neutro, uma positiva no grupo amino e uma negativa no grupo fosfonato (COUTINHO; MAZO, 2005).

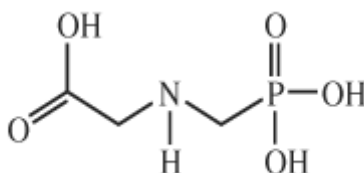


Figura 1: Fórmula estrutural do Glifosato.
Fonte: COUTINHO; MAZO, 2005.

Este herbicida, além do grupo fosfonato, possui outros dois grupos funcionais (amino e carboxilato) que podem se “coordenar fortemente com íons metálicos, especialmente com os de transição em pH próximo de neutro onde os grupos carboxilato e fosfonato estão desprotonados”. Esta habilidade do glifosato para se coordenar como um ligante tridentado o coloca em uma posição privilegiada entre os herbicidas (COUTINHO; MAZO, 2005).

O glifosato é um ácido orgânico fraco constituído de uma molécula de glicina e uma de fosfometila, denominado N-(fosfometil) glicina. Na sua forma pura, o glifosato é um pó, branco, inodoro, com densidade específica de 1,704 g/cm³ a 20°C, solubilidade em água de 11,6 g/L, a 25°C e pH 2,5 em solução a 1%. Devido a sua alta polaridade é praticamente insolúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona e benzeno (WHO, 1994).

O glifosato hoje aparece em muitas formulações, mas a mais conhecida é a formulação comercial Roundup® da Monsanto, que contém o equivalente

ácido (glifosato), sal de isopropilamina, além de surfactante não mencionado. É um potente herbicida de pós-emergência, largo espectro, não seletivo, capaz de controlar efetivamente 76 das 78 ervas daninhas mais agressivas, e as sementes *Roundup Ready* (RR) possuem a resistência a este herbicida (WHO, 1994).

2.1.2 Ação do herbicida

O glifosato é um herbicida sistêmico, não seletivo, de amplo espectro, aplicado em pós-emergência para controlar espécies de plantas daninhas anuais e perenes, de folhas largas ou estreitas (IKEDA, 2013).

Quando o glifosato é aplicado sobre as plantas, este herbicida é absorvido pelo tecido vivo e translocado, via floema, através da planta para raízes e rizomas. O glifosato é o único herbicida capaz de inibir especificamente a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSP), suspendendo a síntese de três aminoácidos essenciais – triptofano, fenilalanina e tirosina. Desta forma, plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em poucos dias ou semanas, e, devido ao transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive (COUTINHO; MAZO, 2005; WILLIAMS; KROES; MUNRO, 2000).

2.1.3 Toxicidade do Glifosato

A toxicidade de um agroquímico é classificada pela OPAS- Organização Pan-Americana da Saúde em conjunto com a OMS - Organização Mundial da Saúde, conforme seu poder tóxico em quatro classes (Tabela 1) (OPAS, 1996). Para esta classificação, usa-se como referência a DL50, que é a dose necessária de uma dada substância ou tipo de radiação para matar 50% de uma população em teste.

Tabela 1 - Classificação dos agrotóxicos quanto ao seu grau de toxicidade.

Classificação	Cor da faixa	Dosagem letal	Dose capaz de matar um adulto
Classe I: extremamente Tóxico	Vermelha	5mg/Kg de peso corpóreo	1 pitada/algumas gotas
Classe II: altamente tóxico	Amarela	5 – 50mg/Kg de peso corpóreo	Algumas gotas/1 colher de chá
Classe III: medianamente tóxico	Azul	50 – 500mg/Kg de peso corpóreo	1 colher de chá/2 colheres de sopa
Classe IV: pouco tóxico	Verde	500 -1000mg/Kg de peso corpóreo	2 colheres de sopa/ 1 copo

Fonte: OPAS (1996).

A toxicidade aguda do herbicida glifosato é considerada baixa (classe III). A DL50 oral do glifosato puro em ratos é de 4.230 mg/kg, enquanto que o fabricante (Monsanto) cita DL50 de 5.600 mg/kg (SANTOS; BRITO; RIBEIRO, 2002).

2.1.4 Periculosidade ambiental

No que tange ao potencial de periculosidade ambiental, o IBAMA classifica os produtos à base de glifosato como “Produto perigoso”- Classe III, embora existam algumas formulações enquadradas na Classe II- “Produto muito perigoso” (BRASIL-MAPA-ANVISA-IBAMA, sd).

2.2 CÂNCER

A definição do Câncer é descrita por vários autores, para Alberts e colaboradores (2017, p. 1093), “as células cancerosas são definidas por duas propriedades hereditárias: 1^a- reproduzem-se desobedecendo os limites normais da divisão celular e 2^a- invadem e colonizam regiões normalmente destinadas a outras células”.

Ainda de acordo com este autor, a combinação dessas duas atividades faz com que o câncer seja particularmente perigoso, tendo em vista que, uma célula anormal que cresce e se prolifera fora de controle dará origem a um tumor ou neoplasia. Alberts e colaboradores (2017, p. 1093), ainda explica que “caso as células neoplásicas não se tornem invasivas, o tumor é considerado **benigno**”, mas “caso as células tenham adquirido a capacidade de invadir

tecidos adjacentes, temos um tumor **maligno**, e só neste caso de tumor maligno é considerado como câncer”.

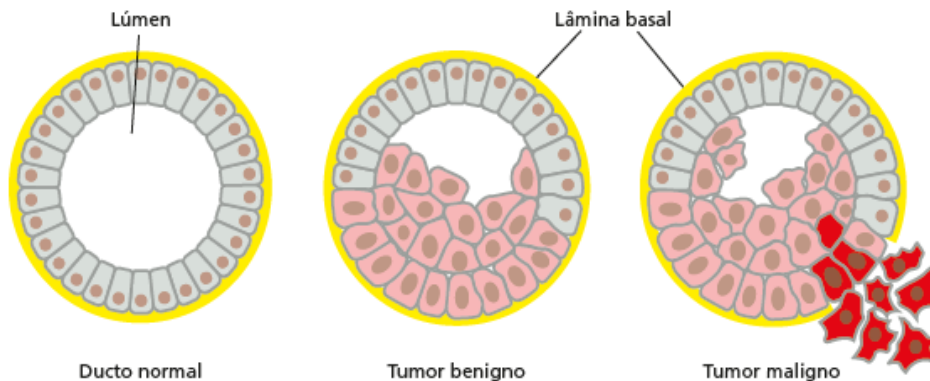


Figura 2: Tumores benignos versus tumores malignos. Um tumor glandular benigno (células rosa; um adenoma) permanece dentro da lâmina basal (amarelo) que marca o limite da estrutura normal (um ducto, neste exemplo). Em contraste, um tumor glandular maligno (células vermelhas, um adenocarcinoma) pode se desenvolver a partir de uma célula tumoral benigna, e ele destrói a integridade do tecido, como ilustrado. Fonte: ALBERTS et al., 2017.

Os autores Ribeiro; Salvadori e Marques (2003) ainda definem o câncer como sendo um conjunto de manifestações clínicas patológicas caracterizadas pela perda do controle do crescimento celular e o ganho de capacidade de invadir tecidos adjacentes ou de espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Estes autores ainda salientam que o processo de carcinogênese, de modo geral, ocorre lentamente. Em certos casos, o período para o surgimento das manifestações clínicas de uma neoplasia maligna pode ser computado em anos.

De acordo com Hanahan e Weinberg (2000) todos os tipos de cânceres compartilham 6 traços comuns, que regem a transformação de células normais em células cancerosas (malignas ou tumorais): i. As células cancerosas podem estimular o seu próprio crescimento (auto-suficiência em sinais de crescimento); ii. Elas resistem a sinais inibidores que poderiam impedir o seu crescimento (insensibilidade aos sinais anti – crescimento); iii. Elas resistem à morte celular programada (apoptose); iv. Elas podem se multiplicar indefinidamente; v. Elas estimulam o crescimento de vasos sanguíneos para

fornecer nutrientes aos tumores; vi. Elas invadem o tecido local e se espalham para outros tecidos (metástase).

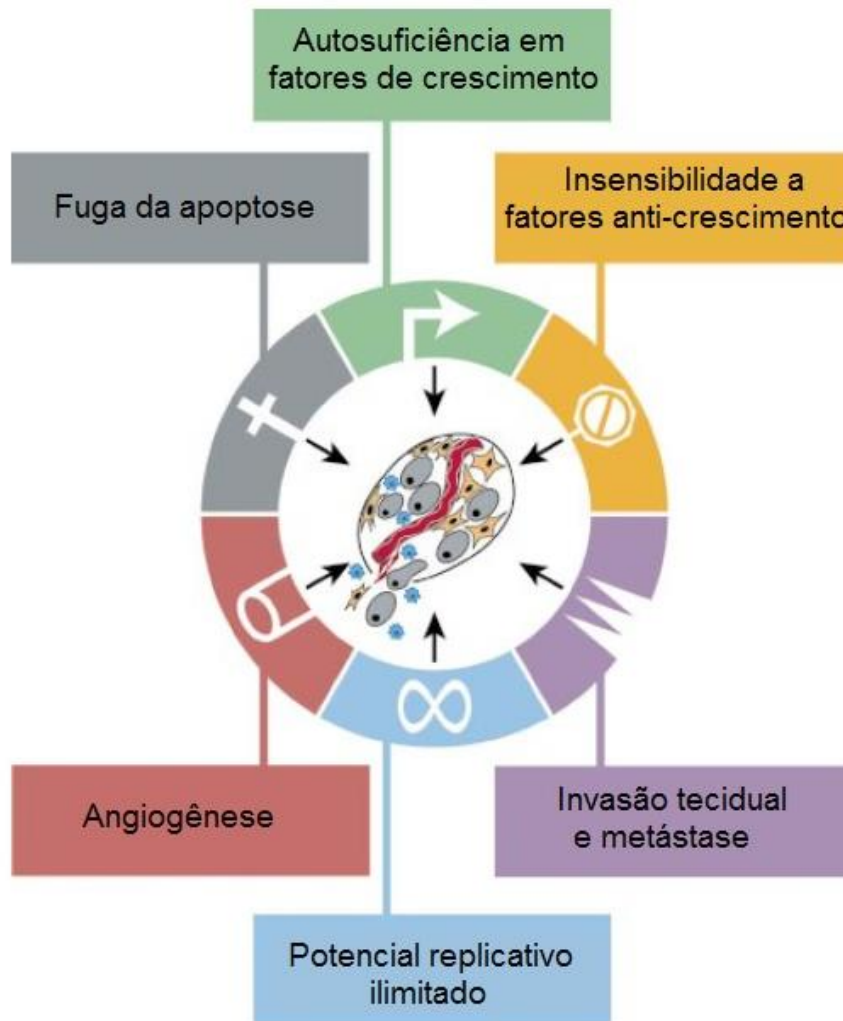


Figura 3: Capacidades adquiridas pelo câncer. Fonte: Adaptado de HANAHAN e WEINBERG (2000)

De acordo com Alberts e colaboradores (2017, p. 1093), “a maioria dos cânceres origina-se de uma única célula anormal”. Estes autores ainda salientam que, caso uma única célula anormal origine o tumor ela deve transmitir esta anormalidade/aberração para sua progênie. Esta aberração hereditária pode ser causada tanto por alterações genéticas, quanto epigenéticas, mas há indícios que na maioria dos tumores estas alterações sejam genéticas.

A mutação no DNA é a alteração genuína do processo de carcinogênese e pode ser induzida externa ou internamente ao organismo. Os indutores externos são carcinógenos químicos (solventes aromáticos; clorados;

agrotóxicos), físicos (radiações ionizantes e não ionizantes; campos eletromagnéticos) e biológicos (vírus, microorganismos). Os indutores internos podem ser entre outros, hormonais, imunológicos e enzimáticos que promovem mutações genéticas na estrutura do DNA. De modo geral, esses condicionantes estão presentes de forma interativa na promoção do processo de carcinogênese (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003).

A maioria dos carcinógenos apresenta uma propriedade em comum: são eletrofílicos altamente reativos que reagem com locais nucleofílicos na célula. Essas reações eletrofílicas podem atacar, nas células alvos, diversos locais ricos em elétrons, porém muitas evidências apontam o DNA como alvo primário (BEDOR, 2008). Após as mutações, ocorrem alterações no processo de divisão celular, relacionados ao controle e alterações na diferenciação, resultando na perda de características funcionais e na formação de tumores (CUNNINGHAM; MATTHEW, 2008).

Os agrotóxicos fazem parte dos carcinógenos que possuem a capacidade de induzir o câncer por mecanismos variados como genotoxicidade e promoção de tumores envolvendo mediadores hormonais; imunológicos e a produção de moléculas oxidantes (peróxidos) (RODVALL; DICH; WIKLUND, 2003).

2.3 RELAÇÃO ENTRE A INCIDÊNCIA DE CÂNCER E A EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO

Diversos trabalhos têm sido publicados demonstrando uma possível correlação entre a incidência de câncer e a exposição ao glifosato. Samsel e Seneff (2015) relataram que em um estudo com tratamento de Glifosato em ratos, ao longo de 26 meses, foi possível observar o surgimento de tumores em glândulas e órgãos.

López e colaboradores (2012) trazem que a exposição ao glifosato pode aumentar a incidência de câncer, além de afetar as células embrionárias e placentárias, induzir a desregulação endócrina de receptores, produzindo dano mitocondrial, necrose e morte celular programada, além de danos em linhagens celulares.

Chang e Delzell (2016) nos trazem que, em uma recente meta-análise conduzida por investigadores da IARC, foi encontrada uma associação entre o uso de glifosato e o Linfoma Não-Hodgkin. Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo realizado por Hardell e Erikson (1999), onde estes autores constataram que há uma associação entre a exposição prolongada ao glifosato e o linfoma Não-Hodgkin.

Thongprakaisang (2013) em um estudo *in vitro* utilizando células cancerosas de mama de humanos, constatou que o glifosato exerceu efeitos proliferativos apenas em câncer de mama humano dependente de hormônio (células T47D), mas não em câncer de mama hormônio independente (células MDA-MB231). Com base nos resultados obtidos a partir deste estudo, os autores puderam constatar que em concentrações baixas o glifosato possui atividade estrogênica.

Outro estudo feito por Mesnage e colaboradores (2017) observou que o glifosato (59 μM) promoveu a proliferação de células de câncer de mama humano MCF-7 dependentes de estrogênio, aumentou a expressão gênica de elemento de resposta de estrogênio em células T47DKBluc, que foi bloqueada pelo antagonista de estrogênio ICI 182,780. Este estudo reforçou o efeito estrogênico do glifosato, embora em concentrações relativamente altas.

Em um grande estudo de coorte prospectivo realizado por Andreotti e colaboradores (2018), não houve associação aparente entre o uso do glifosato e a incidência de tumores sólidos ou malignidades linfoides em geral, incluindo o linfoma não-Hodgkin e seus subtipos. Houve uma pequena evidência de aumento do risco de desenvolver leucemia mielóide aguda entre o maior grupo exposto que requer confirmação.

Em um estudo laboratorial realizado para dimensionar o dano ao material genético dos indivíduos expostos ao glifosato, demonstrou-se que todos os indivíduos estudados apresentavam fragmentação de seu material genético, o que se relaciona com alterações de genes que podem inativar-se, perder-se ou transmutar-se, alterando sua função e relacionando-se a mutações envolvidas com o desenvolvimento de câncer e incremento de abortos (WILLIAMS; KROESB; MUNRO, 2000).

2.4 MICRONÚCLEOS

Os micronúcleos são estruturas extranucleares compostas por cromossomos ou fragmentos de cromossomos que durante a mitose não foram incorporados ao núcleo principal. Os micronúcleos são observados em células que apresentam capacidade de divisão e podem ser vistos tanto como fragmentos de cromossomos, quanto como cromossomos inteiros que, durante a mitose, não tiveram a capacidade de migrar através do fuso para um dos polos celulares (FENECH, 2000).

Ramires e Saldanha (2002, p. 140) definem ainda micronúcleo como:

O micronúcleo é um núcleo adicional e separado do núcleo principal de uma célula formado durante a divisão celular por cromossomos ou fragmentos de cromossomos que se atrasam em relação aos demais (Figura 4). Resulta de alterações estruturais cromossômicas espontâneas ou experimentais induzidas ou ainda, de falhas no fuso celular, sendo portanto, excluído do novo núcleo formado na telófase.

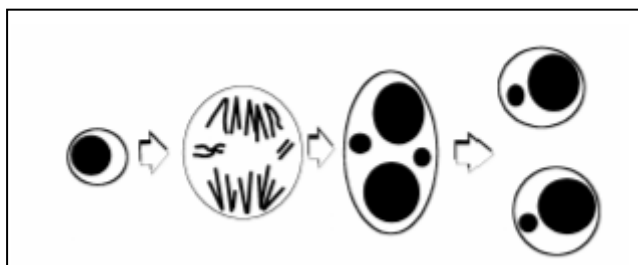


Figura 4- Formação de micronúcleo. Nota: No processo de divisão da célula durante a anáfase pode ocorrer a falha na incorporação de fragmentos de cromossomos ou de cromossomos inteiros da célula filha. Fonte: FENECH et al., 1999.

Os micronúcleos não são algo recente, eles foram descritos há mais de um século, sendo inicialmente chamados de “fragmentos de material nuclear” ou “corpúsculos intraglobulares” (KIRSCH-VOLDERS et al., 2003). A primeira tentativa de utilizar os micronúcleos como indicadores de dano citogenético foi realizada por Evans e colaboradores (1959 apud EVANS, 1997), onde foi utilizado a frequência de micronúcleo para medir o dano induzido em raiz de cebola. Contudo, o grande marco na utilização do teste de micronúcleo como uma forma de monitorar a ação de agentes com potencial genotóxico veio de trabalhos realizados por Boller e Schmid (1970) que sugerem o termo “teste de Micronúcleo” pela primeira vez.

A frequência de micronúcleos é capaz de medir tanto a quebra cromossômica quanto a perda cromossômica, sendo essa técnica sensível para o monitoramento de dano genético (FENECH et al., 1999). A análise de

micronúcleos em células esfoliadas da mucosa bucal, segundo Stich, Crutis e Parida (1982); Sarto e colaboradores (1987) e Bloching e colaboradores (2000), mostra suficiente validade e sensibilidade, como método capaz de detectar efeitos de carcinógenos ambientais.

Os micronúcleos observados nas células dos esfregaços da mucosa bucal indicam a ocorrência de aberrações cromossômicas ocorridas nas células da camada basal (STICH; CRUTIS; PARIDA, 1982), e dessa forma refletem o dano genotóxico ocorrido 7 a 10 dias antes da coleta.

Sarto e colaboradores (1987) propuseram critérios para classificação de micronúcleos que são os seguintes: um micronúcleo deve ser considerado quando apresentar estrutura e intensidade de coloração da cromatina similares ou mais fracas que o núcleo principal; bordas nítidas, sugerindo a presença de membrana nuclear; forma arredondada ou ovalada e incluída no mesmo citoplasma do núcleo principal e tamanho menor que 1/5 do núcleo principal.

Há trabalhos que utilizaram a técnica de micronúcleos para detectar alterações celulares prévias ao aparecimento clínico do câncer de boca. Dentre estes trabalhos, podemos citar Bohrer (2003), no qual a técnica de micronúcleo foi empregada para avaliar as alterações citopatológicas em três sítios anatômicos da mucosa bucal com maior risco para o desenvolvimento de câncer de boca aos expostos a carcinógenos como o fumo e o álcool.

2.5 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

Cerro Largo é um município com uma população estimada de 14.069 habitantes, de acordo com o *site* cidades do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), estando localizado na região das Missões, Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.

A zona rural do município de Cerro Largo é dividida em 15 comunidades, onde residem, aproximadamente, 20,5% da população (IBGE, 2017b), sendo que 810 agricultores são pertencentes à classe dos agricultores familiares, de acordo com a Emater local.

Na zona rural a economia é baseada na produção leiteira e nas culturas de soja, em maior escala, milho e trigo, além de outras culturas em menor escala, de acordo com a Emater local.

No município de Cerro Largo, nos últimos anos, houve um aumento na quantidade de agroquímicos utilizados, principalmente devido ao plantio tanto da soja quanto do milho transgênico. Segundo dados do Centro de Vigilância em Saúde da Secretaria da Saúde do estado do Rio Grande do Sul (RIO GRANDE DO SUL, 2008), o município encontra-se localizado na região do Rio Grande do Sul que mais utiliza agrotóxicos por hectares, cerca de 703,29 a 874,65 litros por Km² no ano.

2.6 COMITÊ DE ÉTICA

Foram seguidos os preceitos da Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que dispõe sobre pesquisas com seres humanos. O projeto e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1) foram encaminhados ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal Da Fronteira Sul (UFFS) e obtiveram aprovação sob o parecer número **CAAE: 65029417.0.0000.5564**.

3 RESULTADOS

Os resultados deste estudo estão apresentados sob a forma de dois artigos científicos. Os referidos artigos são apresentados nas Seções 3.1 e 3.2, e identificados como Estudo I e Estudo II, respectivamente.

O primeiro artigo (Seção 3.1), que versa principalmente sobre a percepção dos agricultores familiares do município de Cerro Largo em relação aos casos de câncer e o uso do herbicida glifosato, tem como título “ A exposição ao glifosato e a possível relação com a incidência de câncer em agricultores familiares do município de Cerro Largo-RS” e será submetido ao periódico **Revista Ambiência** (Anexo 2) para avaliação.

No segundo artigo (Seção 3.2), “Alterações celulares da mucosa bucal em agricultores expostos ao glifosato”, trata da frequência de Micronúcleos e outras alterações celulares em agricultores expostos e não expostos ao glifosato. Este artigo será submetido ao periódico **Revista Ciência e Natura** para avaliação.

3.1 ESTUDO I

A EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E A POSSÍVEL RELAÇÃO COM A INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS

THE EXPOSURE TO GLYPHOSATE AND THE POSSIBLE RELATIONSHIP TO THE INCIDENCE OF CANCER IN FAMILY FARMERS OF THE MUNICIPALITY OF CERRO LARGO-RS

Resumo: O desenvolvimento da agricultura tem aumentado a necessidade do uso de herbicidas, entre eles do glifosato (N-fosfonometil glicina). O objetivo deste trabalho foi analisar indícios que relacionem a exposição ao glifosato e a incidência de neoplasias em agricultores do município de Cerro Largo, RS. A pesquisa foi qualitativa e quantitativa, fazendo uso de entrevistas a 120 agricultores familiares do sexo masculino. Conforme apontam os resultados, os entrevistados possuem idade elevada, a maioria (59 indivíduos) estão na faixa etária acima dos 51 anos e apenas 21 entre 20 - 40 anos. Quanto ao grau de instrução 60% possui apenas ensino primário. Em relação ao uso do glifosato, 62,5% afirmaram utilizá-lo, principalmente nas culturas de soja e milho e a maioria utiliza o mesmo entre 5-10 anos (26,66%). A maioria 37,33% fica exposta entre 30 minutos a uma hora a cada aplicação. Em relação aos casos de câncer na família, 62 agricultores (51,66%) relataram que já tiveram ou tem casos de câncer em suas famílias. A associação entre a faixa etária e a utilização do glifosato não foi significativa ($p=0,12$), assim como não foi significativa ($p=0,06$) a associação entre a faixa etária e os casos de câncer, a associação entre os casos de câncer e a utilização do glifosato ($p=0,51$) e a associação entre os casos de câncer com o tempo de utilização do glifosato ($p=0,56$). Este estudo contribuiu para o reconhecimento da existência de fatores de risco associado ao uso do glifosato à saúde dos trabalhadores rurais deste município. Salienta-se a necessidade de estudos posteriores que aprofunde os casos de intoxicação tanto aguda quanto crônica nos agricultores expostos ao glifosato e outros agroquímicos. Reconhece-se que o tamanho amostral utilizado foi pequeno.

Palavras – chave: herbicida; tumor; trabalhadores rurais.

Abstract: The development of agriculture has increased the need for the use of herbicides, among them glyphosate (N-phosphonomethyl glycine). The objective of this study was to analyze the relationship between exposure to glyphosate and the incidence of neoplasms in farmers in the municipality of Cerro Largo, RS. The research was qualitative and quantitative, making use of interviews with 120 male family farmers. As the results indicate, the interviewees are of high age, the majority (37 individuals) are in the age group between 51-60 years and only 17% between 20-40 years. Regarding the level of education, 60% have only primary education. Regarding the use of glyphosate, 62.5% reported using it, mainly in soybean and corn crops, and most used the same between 5 and 10 years (26.66%). Most 37.33% is exposed between 30 minutes to one hour with each application. Regarding the cases of cancer in the family, 62 farmers (51.66%) reported that they have had or have cases of cancer in their families. The association between age and use of glyphosate was not significant ($p = 0.12$), as well as the association between age and cancer cases was not significant ($p = 0.06$). ($p = 0.51$) and the association between the cases of cancer and the time of use of glyphosate ($p =$

0.56). This study contributed to the recognition of the existence of risk factors associated with the use of glyphosate to the health of rural workers in this municipality. There is a need for further studies to deepen both acute and chronic intoxication in farmers exposed to glyphosate and other agrochemicals.

Key words: herbicide; tumor; rural workers.

INTRODUÇÃO

O uso de agrotóxicos nos últimos 40 anos teve um aumento expressivo, devido principalmente, às políticas de incentivo de seu uso, como o “Plano Nacional de Desenvolvimento Agrícola” que impôs ao agricultor, por ocasião da obtenção do “crédito rural”, o condicionamento à compra obrigatória de agrotóxico em cada financiamento requerido. Essa política induziu o crescimento da indústria de síntese desses compostos no país e a dependência de compostos químicos na produção agrícola (FERREIRA, 1999). Além disso, houve o incremento das sementes transgênicas, que acarretam o uso ainda maior de agrotóxicos, principalmente de herbicidas como o glifosato (ZIMMERMANN, 2009).

Diante deste contexto, o Brasil se tornou um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo, sendo que há três anos ocupa o primeiro lugar no *ranking* de consumo de agrotóxicos no mundo. De acordo com o Relatório de Indicadores de Desenvolvimento Sustentável do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015), a quantidade de pesticidas usados por área plantada no país mais que dobrou de 2000 para 2013, passando de 3 Kg/há para 7 Kg/há.

No Rio Grande do Sul o consumo de agrotóxicos por área plantada também teve um aumento expressivo, onde no ano de 2007 foram utilizados 4,28 Kg/ha em uma área total de 7.982.391 hectares e no ano de 2012 foram 11,97 Kg/ha na área total de 8.270.505 hectares, observando-se que o uso de agroquímicos mais que dobrou e a área cultivada aumentou muito pouco (ERVILHA, 2015).

A região noroeste do Rio Grande do Sul, onde se situa o Município de Cerro Largo, está entre as que mais utiliza agrotóxicos, com quantidade de 33,204 L/hab/ano (CEVS/SES, 2010). Esta situação torna-se muito preocupante para a região, visto que, como apontam vários estudos (AUGUSTO et al. 2015, JOBIM et al. 2010, KOIFMAN; KOIFMAN; MEYER, 2002, LONDRES, 2011) os agrotóxicos geram muitos impactos ao ambiente e principalmente à saúde dos agricultores expostos, podendo causar

diversas neoplasias (câncer de próstata, mama, ovário, entre outros), doenças neurológicas, renais, respiratórias e hepáticas, entre outros.

Nos últimos anos, o município de Cerro Largo teve este aumento na quantidade de agroquímicos utilizados principalmente devido ao plantio tanto da soja quanto do milho transgênico que demandam uma quantidade elevada de agroquímicos, principalmente de herbicidas, como o glifosato, para o controle de plantas daninhas. Nas culturas transgênicas resistentes ao herbicida glifosato, conhecidas como *Roundup Ready* (RR), os agricultores podem realizar a dessecação pós-plantio para o controle de plantas daninhas sem prejudicar sua cultura. Este fato justificaria o aumento expressivo no uso do herbicida glifosato na agricultura tornando-o o agrotóxico utilizado em maior quantidade no Brasil em 2013 (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit). Yamada e Castro (2007) também afirma que um dos agrotóxicos mais utilizados hoje na agricultura de acordo com vários estudos é o herbicida glifosato.

O herbicida glifosato (N-fosfometil glicina), pertence à classe dos organofosforados (COUTINHO; MAZO, 2005). Este herbicida é o princípio ativo de alguns dos agrotóxicos mais utilizados a nível mundial, sendo um potente herbicida de pós-emergência, de largo espectro, não seletivo, capaz de controlar várias ervas daninhas.

A toxicidade aguda do glifosato é considerada baixa (classe III) de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS). Contudo, há controvérsias de diversos autores quanto a esta toxicidade aguda e ainda mais em relação a toxicidade crônica, visto que recentemente este herbicida foi classificado como provavelmente cancerígeno para humanos (Grupo 2A) pela International Agency for Research on Cancer (IARC, 2015) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016, BLAIR et al., 2015).

Neste sentido, diversos estudos têm sido realizados nos últimos anos demonstrando uma possível correlação entre a incidência de cânceres e a exposição ao herbicida glifosato, entre eles, podemos destacar o estudo de Samsel e Seneff (2015) que relataram que ratos submetidos ao tratamento com glifosato ao longo de 26 meses, desenvolveram diversos tumores em glândulas e órgãos.

A região noroeste do estado do Rio Grande do Sul apresenta elevada taxa de neoplasias, que ultrapassam as médias do restante do país. Desta forma, diversos estudos vêm sendo realizados nesta microrregião. Um destes estudos é de Jobim e colaboradores (2010) que consideraram o uso crônico de agrotóxicos no Rio Grande do Sul. Estes pesquisadores realizaram estudo ecológico na microrregião de Ijuí, RS, com

dados do DATASUS – Sistema do Departamento de Estatística do Sistema Único de Saúde, para o período de 1979 a 2003 e constataram que há relação entre áreas cronicamente expostas a agrotóxicos e maior prevalência de neoplasias nesta microrregião.

Diante do exposto o objetivo deste trabalho é analisar possíveis indícios por meio de entrevistas que demonstrem a relação da exposição ao herbicida glifosato e a incidência de neoplasias em agricultores do município de Cerro Largo, RS.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi baseada na coleta de dados e posterior análise através de uma pesquisa qualitativa e quantitativa utilizando entrevistas a agricultores.

Ao realizar o levantamento do número de agricultores familiares do município de Cerro Largo junto ao cadastro de agricultores familiares que a Emater deste município possui, constatou-se que no município há 810 famílias que se encaixam nessa categoria. Estes agricultores estão distribuídos em 15 comunidades, sendo elas: Vila São Francisco, Vila Atolosa, Vila Tremônia, Vila Santo Antônio, Vila São João Norte, L^a Caçador, L^a Santa Fé, L^a São João Centro, L^a Santa Cruz, L^a Poço Preto, L^a Taquaruçu, L^a Santa Bárbara, L^a Reserva, L^a Marreca, Esquina Sandri Moscon. Todas estas comunidades realizam o plantio da soja, e desta forma, podem utilizar o glifosato em grande escala.

Dentre as 15 comunidades, foi realizado um sorteio para definir a amostra de estudo, sendo que, foram sorteadas seis comunidades, por meio de uma amostragem aleatória simples. Cada comunidade recebeu um número de zero a 15, e posteriormente sorteados seis números, e assim foram definidas as comunidades que participaram da pesquisa. De cada comunidade sorteada foram entrevistados 20 agricultores, totalizando assim uma amostra de 120 agricultores do município de Cerro Largo, RS, pertencente à região das Missões.

Para a pesquisa foram considerados apenas os agricultores pertencentes à agricultura familiar, que no caso de Cerro Largo, são os agricultores com uma área de até 4 módulos fiscais (80 hectares). Foram entrevistados apenas agricultores do sexo masculino, pois os mesmos têm uma exposição mais direta ao herbicida glifosato.

O questionário de forma geral contou com questões relacionadas aos casos de câncer tanto em familiares, como na comunidade onde os agricultores entrevistados

residem. Ainda contou com questões relacionados ao uso do herbicida glifosato, tempo de exposição, tempo de utilização em anos e culturas onde o herbicida é mais utilizado.

Após a aplicação do questionário, foram utilizadas tabela simples e cruzada para análise dos dados. Para análise de associação entre as variáveis foi utilizado o teste Qui-Quadrado e exato de Fisher, utilizando um intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DOS AGRICULTORES

Considerando a caracterização sociodemográfica dos agricultores, conforme tabela 1, observa-se que os agricultores residentes nas comunidades amostradas possuem idade mais elevada, sendo que a maioria dos agricultores entrevistados (37 agricultores) está na faixa etária entre 51-60 anos (30,83%), seguida de 25 agricultores da faixa etária entre 41-50 anos (20,83%), 22 agricultores (18,33%) da faixa etária de 61-70, 15 agricultores (12,5%) na faixa etária de 31-40 e também 15 agricultores (12,5%) possuem mais de 70 anos e que desta forma, não deveriam estar mais aplicando agrotóxicos. Apenas 6 agricultores considerados jovens de 20-30 anos (5%), foram abordados.

Ristow (2017) realizou um estudo com agricultores no município de Cerro Largo-RS e constatou que a faixa etária predominante no município é de 51-60 anos, corroborando com o presente estudo. A média nacional de faixa etária é de 21-40 anos (ARAÚJO et al., 2007). Vem ao encontro dos dados do Censo Demográfico, que demonstram que a faixa etária dos agricultores do município de Cerro Largo é de 50 anos ou mais, correspondendo a 36% (IBGE, 2015).

Ainda na tabela 1, quanto ao grau de instrução, 72 agricultores (60%) relataram possuir apenas ensino primário (fundamental), seguido de 40 agricultores (33,3%) com ensino secundário (nível médio), 7 agricultores (5,8%) com ensino superior e apenas um agricultor (0,83%) pós - graduado. É possível observar que a grande maioria dos agricultores possui baixa escolaridade. Corroborando com estes resultados, Mazzoleni, Nogueira (2006) afirmam que no Brasil a baixa escolaridade é predominante na população rural, sendo poucos os residentes rurais com ensino médio, técnico ou superior. Corroboram ainda com estes resultados Oliveira-Silva, et al (2001) que

constaram a baixa escolaridade dos agricultores entrevistados no município de Magé, RJ.

Verifica-se ainda na tabela 1 que 96,66% dos agricultores entrevistados são donos de sua propriedade, sendo que, apenas 3,33% dos agricultores são trabalhadores remunerados. Estes dados divergem dos encontrados por Cabral (2012), onde em seu estudo realizado na cidade de Campinas, SP, constatou-se que há uma maior predominância de assalariados e/ou empregados, que compreende 66,8%, e apenas 12,7% correspondem a proprietários. Em contrapartida, estes dados corroboram com os resultados encontrados por Castro e Canfalonieri (2005) na cidade de Cachoeiras de Macacu, RJ, onde a maioria dos agricultores, 87,5%, eram proprietários e apenas 12,5% eram empregados.

Tabela 1 - Caracterização sociodemográfica dos agricultores de Cerro Largo, RS.

Características	N	%
Faixa etária		
20-30	6	5%
31-40	15	12,5%
41-50	25	20,83%
51-60	37	30,83%
61-70	22	18,33%
Acima de 70	15	12,5%
Escolaridade		
1º Grau (nível fundamental)	72	60%
2º Grau (nível médio)	40	33,33%
3º Grau (nível superior)	7	5,83%
Pós – graduado	1	0,83%
Proprietário	116	96,66%
Trabalhador	4	3,33%

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

CASOS DE CÂNCER NA FAMÍLIA

Na tabela 2 encontra-se o número de casos de câncer na família dos agricultores entrevistados, as possíveis causas indicadas pelos agricultores, o órgão no qual a neoplasia se desenvolveu assim como o grau de parentesco com o entrevistado.

Verifica-se, conforme tabela 2, que 62 agricultores entrevistados (51,66%) relataram que já tiveram ou têm casos de câncer em suas famílias e 58 agricultores (48,33%) relataram que não há casos de câncer na família. A maioria (56,45%) dos que possuem casos de câncer na família não sabem informar as possíveis origens destas neoplasias, sendo que apenas 7 agricultores (11,29%) acreditam ser devido a exposição aos agrotóxicos, 3 associam o câncer de familiares há fatores genéticos/hereditários, e 17 agricultores (27,42%) associam as neoplasias de seus familiares a outros fatores, como por exemplo, a exposição solar, consumo de álcool e tabaco.

Observa-se, ainda na tabela 2, que as neoplasias acometem os mais variados órgãos, entre eles, esôfago, mama, intestino, próstata, pele, entre outros. Pode-se observar a prevalência de câncer de mama e intestino, cada um tendo 10 casos citados (16,12%) pelos agricultores entrevistados.

Verifica-se ainda que o grau de parentesco com o agricultor entrevistado é bem variado, sendo que 17 casos (27,41%) citados era o pai do agricultor, 6 casos (9,67%) a mãe do agricultor, 3 casos (4,83%) filhos dos agricultores. Também há casos citados de neoplasias em tios (14,51%), irmãos (9,67%), entre outros.

Tabela 2- Casos de câncer em familiares dos agricultores do município de Cerro Largo, possíveis causas e órgãos afetados.

Características	N	%
Casos de câncer em familiares		
Teve câncer	58	48,33%
Não teve câncer	62	51,66%
Possíveis causas		
Agrotóxicos	7	11,29%
Fatores genéticos	3	4,83%
Não sabe	35	56,45%
Outros	17	27,42%

Órgão			
	Esôfago	3	4,83%
	Intestino	10	16,12%
	Mama	10	16,12%
	Pele	8	12,90%
	Próstata	6	9,67%
	Pulmão	5	8,06%
	Outros	20	32,25%
Grau de parentesco			
	Filho (a)	3	4,83%
	Irmão (a)	6	9,67%
	Mãe	6	9,67%
	Pai	17	27,41%
	Tio (a)	9	14,51%
	Vô (ó)	6	9,67%
	Outro	15	24,19%

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

Quando os agricultores foram questionados a respeito dos casos de câncer em suas comunidades, aproximadamente 45% dos entrevistados relataram que em suas comunidades há muitos casos de câncer, 36% que há poucos casos e 18% que não há casos de câncer em sua comunidade.

Faria et al (2009), observaram em seu estudo que as neoplasias são muito características de intoxicações crônicas da exposição aos agrotóxicos. Desta forma, embora a grande dos agricultores entrevistados não tenha associado a incidência de câncer ao uso de agrotóxicos, os mesmos podem estar estreitamente relacionados.

De acordo com a OMS (2015), no mundo, o principal responsável pelas mortes são os cânceres ligados ao sistema respiratório, incluindo tumores de traqueia, de brônquio e de pulmões. No total, essas doenças fazem 1,6 milhão de vítimas por ano. Na virada do século 21, eram apenas 1,1 milhão de mortos. Sendo que, os tumores são mais fatais em homens, com 5 milhões de casos em 2015, contra 3,8 milhões de mulheres. Os cânceres que afetam os dois gêneros, no entanto, são distintos. Entre os homens, os tumores mais

letais são os que atingem o sistema respiratório, enquanto as mulheres são mais afetadas pelo de mama.

Em consonância dados do INCA (2015) alertam que a incidência de câncer de mama está aumentando em mulheres com faixa etária maior.

A OMS estimou, em 1990 (WHO, 1990), que deveriam ocorrer no mundo, anualmente, cerca de 75.000 casos de câncer por exposição a agrotóxicos e este número tende a aumentar a cada ano. Silva (2007) afirma que o excesso de câncer em agricultores está possivelmente associado à exposição ocupacional a agrotóxicos (SILVA, 2007).

USO DO HERBICIDA GLIFOSATO

Conforme a tabela 3, 62,5% dos agricultores familiares do município de Cerro Largo, RS, fazem uso do herbicida glifosato em sua propriedade principalmente nas culturas de soja e milho. Dentre os que utilizam o herbicida, a maioria utiliza o mesmo há 05-10 anos (26,66%), 25,33% utilizam o herbicida há 10-15 anos, 18,66% utilizam há 15-20 anos e 13,33% dos agricultores entrevistados utilizam o herbicida há mais de 20 anos. Cabral (2012) ressalta em seu estudo que a maioria dos agricultores (63,9%) utiliza agrotóxicos há mais de 10 anos. Neste estudo, foi explorada apenas a utilização do herbicida glifosato, desta forma, os resultados demonstraram que 26,66% fazem uso deste herbicida há 5-10 anos.

Com relação ao tempo de exposição ao herbicida, 37,33% dos entrevistados ficam expostos entre 30 minutos a uma hora a cada aplicação, seguidos de 32% dos agricultores que ficam expostos durante 15- 30 minutos, 20% de uma a duas horas e 10,66% dos agricultores entrevistados ficam expostos por mais de duas horas ao herbicida glifosato a cada aplicação.

No estudo realizado por Cerqueira et al. (2010), o tempo de exposição dos agricultores do município de Cajazeiras, PB, é maior do que o encontrado em nosso estudo, sendo de $7,5 \pm 0,28$ horas. Assim, quanto maior o tempo de preparo e aplicação maior é o tempo de exposição, conseqüentemente maiores serão os danos provocados a saúde e ao meio ambiente (CERQUEIRA et al, 2010).

Na tabela 3 é possível observar que dentre os agricultores que fazem uso do glifosato, 42,66% aplicam o mesmo de uma a duas vezes ao ano, seguidos de 22,66% dos agricultores que aplicam o herbicida de duas a três vezes ao ano, 16% dos

entrevistados aplicam de três a quatro vezes ao ano, 8% de quatro a cinco vezes, e ainda observa-se que 10,66% dos agricultores aplicam o glifosato mais de cinco vezes ao ano, reafirmando que o uso do herbicida glifosato é utilizado em grande escala em nossa região.

Tabela 3- Tempo de exposição ao herbicida glifosato e principais culturas que o utilizam.

Características	N	%
Uso do Glifosato		
Sim	75	62,5%
Não	45	37,5%
Utilização em anos		
0-5 anos	12	16%
5-10 anos	20	26,66%
10-15 anos	19	25,33%
15-20 anos	14	18,66%
Mais de 20 anos	10	13,33%
Tempo de exposição		
15-30 min	24	32%
30 mim-1h	28	37,33%
1h-2 h	15	20%
Mais de 2h	8	10,66%
Periodicidade da aplicação ao ano		
1 a 2	32	42,66%
2 a 3	17	22,66%
3 a 4	12	16%
4 a 5	6	8%
Mais de 5	8	10,66%
Culturas		

Soja	12	16%
Milho	25	33,33%
Soja/milho	26	34,66
Outro	12	16%

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL DOS AGRICULTORES AO HERBICIDA GLIFOSATO

Os agricultores estão expostos aos agrotóxicos não só na hora da preparação da calda ou da aplicação, mas desde a compra do produto. De acordo com Abreu (2014) as atividades laborais com potencial risco de intoxicação são: aquisição, transporte, armazenamento, preparo e aplicação, destino final das embalagens vazias e higienização de roupas/EPIs contaminados.

Conforme a tabela 4, 97,33% dos agricultores entrevistados afirmaram que adquiriram o produto com o receituário agrônomo, o que se configura como um grande avanço, pois mostra que os agricultores, de alguma forma, estão tendo uma assistência técnica.

Estes resultados divergem dos resultados encontrados por Castro e Canfaloniere (2005), onde 85% dos agricultores entrevistados do município de Cachoeira de Macacu, RJ não adquirem os agrotóxicos com o receituário agrônomo, o que se configura em um grave problema, visto que, no receituário agrônomo constam informações quanto a dosagem e modo de aplicação dos agrotóxicos.

Ainda de acordo com a tabela 4, esta assistência técnica para indicar formas de uso, como dosagem que deve ser aplicada, é na maioria das vezes (98,66%) realizada por um profissional técnico. Apenas um agricultor relatou que sabe a dosagem pela orientação de um engenheiro agrônomo.

Com relação a leitura do rótulo/bula antes da aplicação do agroquímico, 53,33% dos agricultores relataram realizar a leitura, e 46,66% afirmaram nunca realizar a leitura do rótulo/bula. Este dado é considerado preocupante visto que, de acordo com os manuais de uso seguro, os trabalhadores rurais precisam ler a bula dos produtos, pois estes contêm as informações sobre manuseio, precauções, primeiros socorros, destinação das embalagens vazias e necessidade de uso do equipamento de proteção

individual (EPI) (ANDEF, 2016) e, desta forma, ao não realizar tal leitura, os agricultores podem estar aumentando a probabilidade de contaminação com os agrotóxicos.

Estes resultados são semelhantes aos encontrados no estudo de Castro e Canfaloniere (2005), onde 52,5% dos agricultores entrevistados liam os rótulos do produto e 47,5% não realizavam a leitura.

Em contrapartida, Oliveira-Silva et al (2001), constatou em sua pesquisa que 64% dos agricultores entrevistados no município de Magé, RJ não praticavam a leitura dos rótulos dos produtos, ou seja, um número maior de agricultores não realiza a leitura dos rótulos em comparação ao nosso estudo. Segundo o autor, os níveis de escolaridade aliados à linguagem técnica das informações contidas nas embalagens justificam a deficiência na compreensão das informações pelos trabalhadores rurais.

Conforme a tabela 4, quando questionados sobre a dosagem do herbicida glifosato recomendada pelo técnico ou agrônomo ser suficiente ou não para causar o efeito desejado, 56% dos agricultores relataram que a dosagem recomendada é suficiente para se obter um bom resultado de dessecação, e 44% acreditam que a dosagem recomendada não é suficiente, dizendo que a mesma é “fraca”. Desta forma, 46,66% dos agricultores afirmaram que para obterem um bom resultado utilizam muito mais do que a dosagem recomendada, duplicando ou até triplicando esta dosagem. No entanto, para 53,33% não é necessário utilizar mais do que a dosagem recomendada.

Corroboram com estes resultados o estudo de Castro e Canfaloniere (2005) que constaram que alguns agricultores colocam uma quantidade maior do que aquela indicada pelo rótulo do produto afim de obter um melhor resultado.

O uso de EPIs, tanto no preparo da calda quanto na aplicação dos agrotóxicos, é muito importante, pois é uma forma de proteção do agricultor, porém poucos são os agricultores que reconhecem sua importância e o utilizam, conforme indica a tabela 4 onde nenhum agricultor relatou utilizar o EPI completo. Apenas 46,66% relataram utilizar boné/viseira/bota/calça/luvas e máscara, 13,33% relataram utilizar apenas máscara, 6,66% relataram utilizar apenas luvas, a mesma percentagem de agricultores relatou utilizar apenas botas, e 19 agricultores (25,33%) afirmaram não utilizar nenhum tipo de EPI, intensificando assim sua exposição aos agroquímicos.

Tabela 4- Exposição ocupacional dos agricultores do município de Cerro Largo ao herbicida Glifosato.

Características	N	%
Receituário agrônômico		
Sim	73	97,33%
Não	2	2,66%
Leitura do rótulo		
Sim	40	53,33%
Não	35	46,66%
Recomendação da dosagem		
Técnico	74	98,66%
Outro	1	1,33%
Dosagem recomendada é suficiente		
Sim	42	56%
Não	33	44%
Necessidade de utilizar dose maior que a recomendada		
Sim	35	46,66%
Não	40	53,33%
EPIs utilizados		
Boné/viseira/bota /calça/luvas/máscara	35	46,66%
Apenas boné	1	1,33%
Apenas bota	5	6,66%
Apenas luvas	5	6,66%
Apenas máscara	10	13,33%
Não utiliza	19	25,33%

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

Nota: EPI- Equipamento de proteção individual.

No estudo de Faria et al (2004) foram encontrados resultados similares em relação ao uso de EPIs, onde, cerca de 35% dos agricultores entrevistados disseram nunca terem utilizado EPIs. Neste estudo, 25,33% dos agricultores relataram não utilizar EPIs, o que deixa os agricultores em contato direto com o agroquímico, sem nenhuma proteção. Resultados similares também foram encontrados por Zorzetti et al (2014), onde 23% dos agricultores que realizavam a aplicação de agrotóxicos não utilizam EPIs.

Muitos casos de intoxicação poderiam também ser evitados com a completa utilização de proteção adequada, como o EPI que é destinado a proteger a integridade física do trabalhador (AGOSTINETTO et al., 1998). Entretanto, não é utilizado por todos os agricultores, e quando utilizado, geralmente é feito de maneira incorreta (ÁVILA et al., 2009).

INTOXICAÇÃO DOS AGRICULTORES PELO HERBICIDA GLIFOSATO

O uso de agroquímicos pelos agricultores pode causar tanto intoxicações agudas (febre, dor de cabeça, coceira) como intoxicações crônicas (neoplasias) que só poderão ser percebidas após anos de exposição (SILVA, 2006).

De acordo com Silva (2006) a intoxicação decorrente da exposição a agrotóxicos, seja aguda, subaguda ou crônica, constitui um grande problema de saúde na atividade ocupacional. É comum o trabalhador rural apresentar algum tipo de intoxicação pelo menos uma vez no decorrer da vida (SILVA, 2006).

Observa-se na tabela 5, que dentre os agricultores que utilizam o herbicida glifosato apenas cinco (6,66%) relataram ter sofrido intoxicação aguda, e a maioria (93,33%) afirmaram nunca ter sofrido nenhum tipo de intoxicação ao utilizar o glifosato. Dos que sofreram intoxicação, apenas três procuraram atendimento médico.

Em um estudo realizado na cidade de Bento Gonçalves, RS, os autores observaram que 19,4% dos agricultores relataram intoxicações em algum momento da vida pelo uso de agrotóxicos, entre eles o herbicida glifosato (FARIA et al., 2009).

Quando questionados sobre algum sintoma que sentem após a aplicação do herbicida glifosato, 11 agricultores (14,66%) relataram ter sentido fortes dores de cabeça após a aplicação, sete (9,33%) agricultores relataram que, além de dor de cabeça, sentiram coceira. Três agricultores (4%) sentiram apenas coceira, um agricultor (1,33%) sentiu coceira, dor de cabeça, febre, lacrimejamento e teve manchas na pele e 53

agricultores (70,66%) relataram nunca ter sentido nenhum sintoma após a aplicação do herbicida glifosato.

Dentre os que sentiram algum sintoma, estes sintomas se caracterizam como uma forma de intoxicação aguda (PERES et al., 2004). Contudo, apenas cinco agricultores associaram estes sintomas a uma forma de intoxicação, os demais, mesmo tendo sentido alguns sintomas acreditam que tais sintomas não estejam associados à intoxicação pelo herbicida glifosato.

Tabela 5- Intoxicação e sintomas dos agricultores do município de Cerro Largo após o uso do herbicida Glifosato.

Características	N	%
Intoxicação		
Sim	5	6,66%
Não	70	93,33%
Atendimento médico após intoxicação		
Sim	3	60%
Não	2	40%
Sintomas após a aplicação do Glifosato		
Dor de cabeça	11	14,66%
Apenas coceira	3	4%
Coceira e dor de cabeça	7	9,33%
Mancha na pele, coceira, dor de cabeça, febre, lacrimejamento	1	1,33%
Nenhum sintoma	53	70,66%

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

O sintoma “dor de cabeça” que foi sentido pela maioria dos agricultores (14,66%) é um sintoma muito comum de intoxicação aguda, estando de acordo com o estudo de Keifer e Mahurin (1997) que observaram que as consequências neurotóxicas

de uma exposição aguda de alto nível estão associadas a uma série de sintomas e defeitos na conduta neurológica e anormalidades na função nervosa. Os sintomas neurológicos menos severos incluem dor de cabeça, tontura, náusea, vômito entre outros. Peres et al (2004) ressalta que em seu estudo, os principais sintomas de intoxicação foram dor de cabeça, dor de barriga e tontura.

Contudo, neste estudo os agricultores entrevistados não associaram os sintomas sentidos com a utilização e a exposição ao glifosato.

FUMANTES E ALCÓOLICOS

O hábito de fumar e ingerir bebidas alcoólicas, associado ao uso de agrotóxicos, pode ser extremamente prejudicial à saúde dos agricultores (BATISTA; JÚNIOR, 2014). Conforme observa-se na tabela 6, 17 agricultores (14,16%) que compõem a amostra de estudo são fumantes. A maioria dos agricultores, 103 (85,83%) são não fumantes. Em um estudo realizado por Cabral (2012) com agricultores de Campinas, SP, constatou-se que destes, 33,7% são fumantes, um número relativamente alto em relação ao encontrado na amostra de agricultores do município de Cerro Largo, RS.

Ainda, verifica-se na tabela 6 que 84 agricultores (70%) ingerem algum tipo de bebida alcóolica, alguns com maior frequência e quantidade e outros em menor, e 36 agricultores (30%) afirmaram não ingerir nenhum tipo de bebida alcóolica. Cabral (2012) relatou que em seu estudo apenas 55,1% dos trabalhadores fazem uso de algum tipo de bebida alcóolica. Este dado é relativamente menor do que o encontrado em agricultores do município de Cerro Largo, onde 70% ingerem algum tipo de bebida alcóolica.

Estudos evidenciam que o tabagismo e o consumo de álcool em excesso aumentam o risco de desenvolvimento de neoplasias malignas de boca e orofaringe em humanos, além de intensificar o risco de outras neoplasias (FIGUERO-RUIZ, et al. 2014). Outro estudo realizado por Jindal, Chauhan e Grewal em 2013, mostrou que o tabaco e o álcool podem causar alterações nas células da mucosa oral, sendo que o álcool apresentou efeito menos grave quando comparado com o tabaco, mas que juntos causam um efeito sinérgico, o que pode levar a um aumento na chance de desenvolvimento do câncer oral. Estes autores ainda defendem a visão de que as alterações citológicas na mucosa bucal, como consequência do uso do tabaco e do

álcool podem servir como um complemento no diagnóstico precoce de alterações pré - malignas orais e câncer.

De acordo com dados do INCA (2015) o tabagismo responde sozinho por, pelo menos, 22% de todas as mortes por câncer, e o álcool está fortemente associado ao risco aumentado de câncer de boca, faringe, laringe, esôfago, intestino, fígado e mama.

Tabela 6- Agricultores familiares fumantes e que ingerem bebida alcóolica.

Características	N	%
Fumante		
Sim	17	14,16%
Não	103	85,83%
Ingestão de bebida alcóolica		
Sim	84	70%
Não	36	30%

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS, UTILIZAÇÃO DO GLIFOSATO E CASOS DE CÂNCER

A utilização do herbicida glifosato é realizada em grande escala pelos agricultores do município de Cerro Largo, e esta utilização demasiada pode configurar-se como fator de risco à saúde dos trabalhadores rurais a medida que muitos agricultores ficam expostos a este herbicida muitos a mais de 20 anos (tabela 3). Diante deste fato, foram agrupadas a faixa etária dos agricultores e verificado se existe ou não associação entre esta característica sociodemográfica e a utilização do glifosato além da incidência de câncer em familiares dos agricultores (tabela 7).

Para estabelecer esta associação apenas foram levadas em consideração as características sociodemográficas dos agricultores que utilizam o herbicida glifosato.

Tabela 7-Utilização do glifosato/casos de câncer e características sociodemográficas dos agricultores familiares do município de Cerro Largo.

Características sociodemográficas	Utilização do Glifosato		P	Algum familiar já teve câncer		P
	Sim n(%)	Não n(%)		Sim n(%)	Não n(%)	
Faixa etária						
20 a 40 anos	12(57)	9(43)	0,12 [#]	6(29)	15(71)	0,06 [#]
41 a 60 anos	44(71)	18(29)		35(56)	27(44)	
Mais de 61 anos	19(51)	18(49)		21(57)	16(43)	
Total n (%)	75(63)	45(37)		62(52)	58(48)	

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

p teste de qui-quadrado;

% referente ao total de cada categoria das características sociodemográficas em cada atividade laboral.

Observa-se na tabela 7 que a associação entre a faixa etária e a utilização do herbicida glifosato não foi significativa ($p=0,12$).

Esta associação pode não ter sido significativa, visto que, o tamanho amostral (n) é pequeno, pois se restringe a apenas uma cidade, Cerro Largo, desta forma, poderia ser visto apenas altos índices de correlação, e não valores menores.

Vários estudos como de Wunsch e Moncau (2002), correlacionam o fator idade com o aumento da incidência de câncer, ou seja, a faixa etária é um fator de risco para a incidência de câncer. Mas neste estudo não foi observado significância entre a faixa etária e a incidência de câncer, o que pode estar relacionado ao tamanho amostral.

Deve –se salientar que estes dados aplicam-se apenas a população do município de Cerro Largo e não podem ser generalizados.

Assim como também não foi significativa ($p=0,06$) a associação entre a faixa etária e os casos de câncer em familiares dos agricultores de Cerro Largo.

CASOS DE CÂNCER EM FAMILIARES, O TEMPO DE EXPOSIÇÃO AO HERBICIDA GLIFOSATO E UTILIZAÇÃO DE EPI

A incidência de casos de câncer entre os agricultores entrevistados no município de Cerro Largo é grande, assim como também é elevada a incidência em toda a região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Este fato pode estar associado com a utilização, em grande escala, de agrotóxicos, em especial do herbicida glifosato, que cada vez mais está sendo utilizado pelos agricultores.

Assim, foram agrupados os casos de câncer em familiares dos agricultores entrevistados e verificado se existe ou não associação entre os casos de câncer e a utilização ou não do herbicida glifosato, o tempo de exposição a este herbicida, além da

utilização ou não de algum EPI na hora do preparo e posterior aplicação do herbicida (tabela 8).

Tabela 8- Casos de câncer em familiares dos agricultores de Cerro Largo e a exposição ao herbicida glifosato.

Casos de câncer	Utilização do Glifosato		P	Tempo de utilização do Glifosato			P	Utiliza algum EPI		P
	Sim n(%)	Não n(%)		0 a 10 anos	10 a 20 anos	+ de 20 anos		Sim n(%)	Não n(%)	
Incidência de câncer em familiar										
Sim	41	21	0,51 [#]	18(55)	16(50)	7(70)	0,56 ^{\$}	35(61)	6(33)	0,06 [#]
Não	34	24		15(45)	16(50)	3(30)		22(39)	12(67)	

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

teste de qui-quadrado com correção de continuidade (correção de Yates).

\$ teste de exato de Fisher.

% referente ao total de cada categoria.

Observa-se na tabela 8 que a associação entre os casos de câncer e a utilização do herbicida glifosato não foi significativa ($p=0,51$). Assim como, também não foi significativa a associação entre os casos de câncer em familiares dos agricultores de Cerro Largo com o tempo de utilização (em anos) deste herbicida pelos agricultores ($p=0,56$).

Estes resultados vêm ao encontro dos resultados de Andreotti et al (2018) onde em um grande estudo de coorte prospectivo não houve associação aparente entre o uso do glifosato e a incidência de tumores sólidos ou malignidades linfoides em geral, incluindo o linfoma não-Hodgkin e seus subtipos. Houve uma pequena evidência de aumento do risco de desenvolver leucemia mielóide aguda entre o maior grupo exposto que requer confirmação.

Divergindo dos resultados encontrados por Rigotto et al (2013) onde foi observada associação significativa entre a exposição a agrotóxicos e a incidência de câncer. Estes dados também divergem dos resultados encontrados por Silva (2007) que demonstra significância estatística entre cânceres hematológicos e exposição a produtos agrotóxicos em estudo realizado no sul de Minas Gerais.

Uma provável hipótese para esta divergência é que este estudo analisou um agrotóxico específico, o herbicida glifosato, já nos estudos de Rigotto e colaboradores (2013) e Silva (2007) foram analisados os agrotóxicos em sua totalidade.

Em uma pesquisa realizada na região do Vale do São Francisco também observou-se que a mortalidade por câncer está associada ao uso de agrotóxicos em trabalhadores rurais (ELLERY et al, 2008).

Stoppelli (2005) demonstrou resultados de quase duas vezes mais probabilidade de agricultores expostos a agrotóxicos adoecerem de diferentes neoplasias. A exposição aos agrotóxicos pode ser considerada como uma das condições potencialmente associadas ao desenvolvimento de câncer (INCA, 2006).

Entretanto, diversos trabalhos têm sido publicados relacionando o uso do herbicida glifosato com a incidência de câncer, como de López e colaboradores (2012) que relata que a exposição ao glifosato pode aumentar a incidência de câncer, além de afetar as células embrionárias e placentárias, desregulação endócrina dos receptores produzindo dano mitocondrial, necrose e da morte celular programada pela ativação de androgênicos e estrogênio, além de danos em linhas celulares do DNA.

De acordo com Chang e Delzell (2016) em uma recente meta-análise conduzida por investigadores da IARC, foi encontrada associação entre o uso do herbicida glifosato e o Linfoma Não-Hodgkin.

Oliveira-Silva et al. (2001), relatam que a utilização dos agrotóxicos no meio rural brasileiro tem trazido uma série de consequências tanto para o ambiente como para a saúde do trabalhador rural.

CONCLUSÃO

Os agricultores familiares do município de Cerro Largo – RS expostos ao herbicida glifosato, estão em constante risco a sua saúde, porque foram evidenciados inadequabilidade das normas de uso seguro destes agroquímicos (falta de uso do EPI), além do próprio desconhecimento da periculosidade do herbicida glifosato por parte dos agricultores.

Os dados sociodemográficos demonstraram baixo nível de escolaridade e idade elevada, a maioria (37 indivíduos) está na faixa etária entre 51-60 anos. O uso do glifosato, é realizado por 62,5% dos agricultores, principalmente nas culturas de soja e milho, sendo que, a maioria utiliza o mesmo entre 5-10 anos (26,66%). Em relação aos casos de câncer na família, 62 agricultores (51,66%) relataram que já tiveram ou tem casos de câncer em suas famílias, sendo que a maior incidência é de câncer de mama e intestino (10 casos de cada).

Verificou-se que a característica sociodemográfica faixa etária não apresentou associação com a utilização do glifosato ($p=0,12$) e com os casos de câncer dos agricultores do município de Cerro Largo e de seus familiares ($p=0,06$).

Apesar da maioria dos agricultores utilizarem o herbicida glifosato a vários anos, não constatou-se associação significativa entre o tempo de uso do glifosato e os casos de câncer nestes agricultores e em seus familiares ($p=0,56$), assim como, entre os casos de câncer e a utilização do glifosato ($p=0,51$).

O tamanho amostral (n) deste estudo é pequeno (120 agricultores), diante disso, se o tamanho amostral fosse maior os resultados poderiam ser diferentes. Mas obteve-se por este n visto que, a população do município de Cerro Largo é considerada pequena e muitas localidades ainda são de difícil acesso.

Deve-se salientar que estes dados aplicam-se apenas a população do município de Cerro Largo e não podem ser generalizados.

Ao final dessa pesquisa, verifica-se que poderiam ter sido melhor discutidas as questões referentes aos casos de intoxicação ao herbicida glifosato, pois não abordaram o período em que os sintomas ocorreram, além disso, em muitos casos não houve confirmação médica dos casos de intoxicação. O estudo contribuiu para o reconhecimento da existência de fatores de risco associado ao uso do glifosato à saúde dos trabalhadores rurais deste município. Salienta-se a necessidade de estudos posteriores que aprofundem os casos de intoxicação tanto aguda quanto crônica.

COMITÊ DE ÉTICA

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da UFFS (CAAE: 65029417.0.0000.5564).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a professora Dr^a Iara Battisti pela ajuda com a estatística.

REFERÊNCIAS

ABREU, P. H. B. O agricultor familiar e o uso (in)seguro de agrotóxicos no município de Lavras, MG. 2014. 205 p. (Dissertação de mestrado em Saúde Coletiva). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

AGOSTINETTO, D.; et al. Utilização de equipamentos de proteção individual e intoxicações por agrotóxicos entre fumicultores do município de Pelotas-RS. **Pesticidas: R. Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 8, p. 45-56, 1998.

ANDEF – ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DEFESA VEGETAL. Manuais. Disponível em: <<http://www.andefedu.com.br/publicacoes/manuais>>. Acesso em 09 ago 2016.

ANDREOTTI, G. et al. Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study. **J Natl Cancer Inst.** v. 110, n. 5, 2018.

ARAÚJO, A. J. et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. **Cienc. Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 115-130, 2007.

AUGUSTO, L. G. S. et al. Agrotóxico e saúde ambiental. In: CARNEIRO, F. F. et al (Org.). Dossiê de Abrasco: Um alerta sobre o impacto dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro/são Paulo: Expressão Popular, 2015. p. 124-169.

ÁVILA, R. A. et al. Trabalho rural e agrotóxicos: Estudo de caso na microbacia do córrego água limpa, município de Campos Altos, Minas Gerais. **Pesticidas: R. Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 19, p. 73-80, 2009.

BATISTA, C. R., JÚNIOR, E. O. C. Avaliação da genotoxicidade em células de pacientes fumantes e não fumantes por meio do teste do micronúcleo. **Getec**, v. 3, n. 6, p. 49-58, 2014.

BLAIR, A. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, diazinon, and glyphosate. **IARC Monographs**. v. 113 e 114, 2015.

CABRAL, E. R. M. Exposição aos agrotóxicos: implicações na saúde de trabalhadores agrícolas de uma região de Campinas – SP. 2012. 170 p. (Dissertação de Mestrado em Saúde Coletiva). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

CASTRO, J. S. M.; CONFALONIERI, U. Uso de agrotóxicos no Município de Cachoeiras de Macacu (RJ). **Cien. Saúde Coletiva**. v. 10, n. 2, p. 473-782, 2005.

CERQUEIRA, G. S. et al. Dados da exposição ocupacional aos agrotóxicos em um grupo assistido por uma unidade básica de saúde na cidade de Cajazeiras, PB. **Ver. Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**. v. 3, n. 1, p. 456-478, 2010.

CEVS/SES. Centro de Vigilância em Saúde da Secretária da Saúde/Secretaria Estadual da Saúde. Relatório Final. Levantamento do uso e da criticidade dos agrotóxicos usados no Estado do Rio Grande do Sul. Talha-Mar Soluções Ambientais. 2010.

CHANG, E. T.; DELZELL, E. Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. **J Environ Sci Health**, v. 51, n. 6, p. 402–428, 2016.

COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H. Complexos metálicos com o herbicida glifosato: revisão. **Quim. Nova**, v. 28, n. 6, 1038-1045, 2005.

ELLERY A. E. et al. Incidência de câncer em agricultores em hospital de câncer no Ceará. In: XVIII IEA World Congress of Epidemiology, VII Congresso Brasileiro de Epidemiologia. São Paulo: ABRASCO; 2008.

ERVILHA. I. C. Relatório: Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos no Estado do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/dezembro/05/Relatorio-Nacional-de-VSPEA-vol-1.pdf> Acesso em 11 set. 2017.

FARIA, N. M. X. et al. Trabalho rural e intoxicações por agrotóxicos. **Cad. Saúde Pública**, v. 20, n. 5, p. 1298-1308, 2004.

FARIA, N. M. X. et al. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS. **Rev. Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 335-344, 2009.

FERREIRA, H. S. Pesticidas no Brasil: impacto ambiental e possíveis consequências de sua interação com a desnutrição humana. **Rev. Bras. de Saúde Ocupacional**, v. 80, n. 21, p. 51-60. 1999.

FIGUERO-RUIZ, E. et al. Effects of the consumption of alcohol in the oral cavity: relationship with oral cancer. **Med Oral**. v. 9, n. 1, p.14-23, 2004.

IBGE (a). (2006). Censo Agropecuário. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/tabela_1_1.pdf Acesso em 12 de set de 2017.

IBGE. IBGE Cidades: descrição e fontes. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=430520>>. Acesso em 02 dez 2015.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER – INCA. Vigilância do câncer relacionado ao trabalho e ambiente. 2006. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/ex_ocup_ambient2006.pdf Acesso em: 28 jun. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Estimativa 2016. Incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Atlas da Mortalidade. Disponível em: <http://mortalidade.inca.gov.br/Mortalidade/>. Acesso em: 02/04/2018.

JINDAL, S.; CHAUHAN, I.; GREWAL, H. K. Alteration in buccal mucosal cells due to the effect of tobacco and alcohol by assessing the silver-stained nucleolar organizer regions and micronuclei. **J. Cytol.** v. 30, n. 3, p. 174–178, 2013.

JOBIM, P. F. C. et al. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciênc. Saúde Coletiva**. v. 15, n. 1, p. 277288, 2010.

KEIFER M., MAHURIN R. Chronic neurological effects of pesticides overexposure. **Occup. Med.** v. 12, n. 2, p. 291-304, 1997.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. J.; MEYER, A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v.18, n. 2, p. 435-445, 2002.

LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: AS-APTA, 2011.

MAZZOLENI, E. M.; NOGUEIRA, J. M. Agricultura orgânica: características básicas do seu produtor. **Rev. Econ. Sociol. Rural**, v. 44, n. 2, p. 263-293, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. V. 1, Brasília DF, 2016.

LÓPEZ, S. L. AIASSA, D.; BENÍTEZ-LEITE, S.; LAJMANOVICH, R.; MAÑAS, F.; POLETTA, G.; SÁNCHEZ, N.; SIMONIELLO, M. F.; CARRASCO, A. E. Pesticides Used in South American GMO-Based Agriculture: A Review of Their Effects on Humans and Animal Models. **Adv. Mol. Toxicol.**, v. 6, p. 41-75, 2012.

OLIVEIRA-SILVA, J. J. et al. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

PERES, F. et al. Percepção das condições de trabalho em uma tradicional comunidade agrícola em Boa Esperança, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 20, n. 4, p. 1.059–1.068, 2004.

RIGOTTO, R. M. et al. Tendências de agravos crônicos à saúde associados a agrotóxicos em região de fruticultura no Ceará, Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 3, n. 16, p. 763-773, 2013.

RISTOW, L. P.; Exposição ocupacional de trabalhadores rurais a agrotóxicos e relação com políticas públicas. Cerro Largo, 2017. (Dissertação de Mestrado em Desenvolvimento e Políticas Públicas). Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2017.

SAMSEL, A.; SENEFF, S. Glyphosate, pathways to modern diseases IV: cancer and related pathologies. **J Biol Phys Chem**, v. 15, p. 121–159, 2015.

SILVA, J. M. Cânceres hematológicos na região sul de Minas Gerais. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, 2007.

SILVA, M. V. A utilização de agrotóxico em lavouras cafeeiras frente ao risco da saúde do trabalhador rural no município de Coacal – RO (Brasil). Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, 2006.

STOPPELLI, I. M. B. S. Agricultura, ambiente e saúde: uma abordagem sobre o risco do contato com os agrotóxicos a partir de um registro hospitalar de referência regional. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2005.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental health criteria 159; glyphosate. Geneva, p.177, 1994.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Public health impact of pesticides used in agriculture, Geneva, WHO, 1990.

Wunsch Filho V, Moncau JE. Mortalidade por câncer no Brasil 1980-1995: padrões regionais e tendências temporais. Revista Associação Medicina Brasileira. 48(3):250-7, 2002.

YAMADA, T.; CASTRO P. R. C. **Efeitos do glifosato nas plantas: efeitos do glifosato nas plantas: efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas.** INFORMAÇÕES AGRONÔMICAS Nº 119, IPNI, 2007.

ZORZETTI, J. et al. Conhecimento sobre a utilização segura de agrotóxicos por agricultores da mesorregião do Norte Central do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 35, n. 4, p. 2415-2428, 2014.

ANEXOS

ANEXO I: Questionário 1 adaptado de BEDOR, 2008, destinado aos produtores rurais enquadrados na Agricultura Familiar para o desenvolvimento do projeto: “A exposição ao glifosato e a incidência de câncer em agricultores familiares do município de Cerro Largo-RS”.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – CAMPUS CERRO LARGO

1. Questionário número: _____
2. Idade: _____
3. Grau de instrução: Analfabeto () 1º grau () 2º grau () 3º grau () pós-graduado ()
4. Proprietário ou trabalhador: Proprietário () trabalhador ()
5. Algum familiar seu teve câncer? () Sim () Não
6. Se sim, na sua opinião qual seria a causa mais provável

- 6.1 Se sim, em qual órgão: _____
- 6.2 Se sim, qual o grau de parentesco: () pai () mãe () irmão(ã) () tio(a) () vô(ó) () outro
7. Na sua comunidade há muitos casos de câncer () Sim () Não
8. Você fuma () Sim () Não. Com que frequência _____
9. Você costuma ingerir bebida alcóolica () Sim () Não. Com que frequência _____
10. Utiliza o glifosato () Sim () Não
- * CASO NÃO UTILIZA NÃO SEGUIR COM O QUESTIONÁRIO
11. Há quanto tempo utiliza este herbicida?

12. Qual o tempo de exposição a cada aplicação?

13. Quantas vezes ao ano faz uso deste herbicida?

14. Em qual cultura o senhor utiliza o glifosato em maior quantidade?

15. O senhor realiza a leitura do rótulo antes da aplicação?
() Sim () Não
16. O senhor adquire o produto com um receituário agrônomo? Sim () Não ()
17. Quais equipamentos de proteção individual o senhor utiliza: Boné () viseira facial () máscara () capuz (touca) luvas () Jaleco hidro-repelente () Calça hidro-repelente () botas impermeáveis () avental resistente a solvente orgânico () outros
18. Como o senhor sabe a dosagem de aplicação deste herbicida: () Engenheiro Agrônomo () Técnico () Outros. Quais _____
19. O senhor acredita que a dosagem recomendada é a suficiente: () Sim () Não
20. Pelo senhor é necessário utilizar mais do herbicida do que é recomendado para se obter e um bom resultado: () Sim () Não

21. Alguma vez já sofreu intoxicação: () Sim () Não
22. Em caso de intoxicação indicar se procurou atendimento médico:
() Sim () Não
23. Após o uso do produto já sentiu algum desses sintomas: () Contrações musculares involuntárias () Convulsões () Coceira intensa () Confusão mental () Dificuldade respiratória () Dor de cabeça () Dores torácicas e cólicas abdominais () Excitação () Espirros () Fraqueza () Irritação da pele () Pupilas contraídas () Vômitos () Formigamento nas pálpebras e nos lábios () Lacrimejamento () Mancha na pele () Náuseas () Perda de apetite () Perda da consciência () Salivação intensa () Tontura () Suor abundante () Secreção e obstrução () Febre muito alta () Tremores musculares () Visão turva ou embaçada

3.2 ESTUDO II

ALTERAÇÕES CELULARES DA MUCOSA BUCAL EM AGRICULTORES EXPOSTOS AO GLIFOSATO

MUCOSA CELLULAR CHANGES IN FARMERS EXPOSED TO GLYPHOSATE

Carine Kupske¹, Lauren Zamin¹, Suzymeire Baroni¹

¹Universidade Federal Fronteira Sul, Cerro Largo, Brasil

carinekupske@hotmail.com

Lauren.zamin@uffs.edu.br

Suzymeire.baroni@uffs.edu.br

Resumo

Os agrotóxicos podem apresentar características genotóxicas ou clastogênicas quando interagem com o DNA nuclear promovendo alterações cromossômicas, que a longo prazo, contribuem para o estabelecimento de processos tumorais. Este estudo avaliou o comportamento do epitélio da mucosa bucal provocado pela exposição ao herbicida glifosato dos agricultores familiares do município de Cerro Largo, RS. Foram realizados esfregaços bucais em três regiões distintas (bochecha, assoalho bucal e bordos da língua) de 10 indivíduos teste (expostos ao glifosato, não fumante e não alcóolicos) e 10 indivíduos controle. Após a coleta da mucosa bucal as lâminas foram fixadas e coradas com Giemsa, sendo três lâminas de cada região bucal. Para verificar a presença de micronúcleos e de outras alterações celulares foram observadas 2000 células de cada região bucal por indivíduo. Os resultados mostraram que a exposição ao glifosato aumentou a frequência de micronúcleos no grupo teste ($p=0,0002$), bem como aumentou a frequência de outras alterações celulares de forma altamente significativa, tais como *brokenegg* ($p=0,001$), binucleação ($p=0,0001$) e cariólise ($p=0,0004$). Baseado nestes achados pode-se concluir que o uso do glifosato pode estar sendo capaz de provocar danos ao epitélio da mucosa bucal e este responde de forma adaptativa por meio de modificações celulares.

Palavras – chave: Herbicida. Micronúcleos. Mucosa

Abstract

Agrochemicals may present genotoxic or clastogenic characteristics when interacting with nuclear DNA promoting chromosomal changes, which in the long term contribute to the establishment of tumor processes. This study evaluated the behavior of buccal mucosa epithelium caused by exposure to glyphosate herbicide from family farmers in the municipality of Cerro Largo - RS. Mouth smears were performed in three distinct regions (cheek, buccal floor and tongue border) of 10 test subjects (exposed to glyphosate, non-smokers and non-alcoholics) and 10 control subjects. After collection of the buccal mucosa, the blades were fixed and stained with Giemsa, with three blades from each buccal region. To verify the presence of Micronuclei and other cell alterations, 2000 cells from each buccal region were observed per individual. The results showed that glyphosate exposure increased the frequency of Micronuclei in the test group ($p = 0.0002$), as well as increased the frequency of other cellular alterations in a highly significant way, such as *brokenegg* ($p = 0.001$), binucleation ($p = 0.0001$) and karyolysis ($p = 0.0004$). Based on these findings it can be concluded that the use of Glyphosate may be capable of causing damage to the epithelium of the oral mucosa and it responds adaptively through cellular modifications.

Key words: Herbicide. Micronuclei.

INTRODUÇÃO

O uso de agrotóxicos tem crescido de forma alarmante nas últimas décadas devido a diversos fatores, dentre eles podemos destacar o incentivo por parte do governo com a criação do “Plano Nacional de Desenvolvimento Agrícola” que impôs ao agricultor, por ocasião da obtenção do “crédito rural”, o condicionamento à compra obrigatória de agrotóxico em cada financiamento requerido (FERREIRA, 1999). Outro fator relevante foi o incremento das sementes transgênicas, que demandou o uso

exacerbado de agroquímicos, principalmente do herbicida glifosato (N-fosfonometil glicina) (ZIMMERMANN, 2009).

Os agrotóxicos podem apresentar características genotóxicas ou clastogênicas quando interagem com o DNA nuclear promovendo mutações ou alterações nos cromossomos, que a longo prazo, contribuem para o estabelecimento de processos tumorais. O câncer, as anomalias congênitas e as doenças genéticas encontram-se entre alterações mais significativas (BERTRAM, 2001).

Um dos agroquímicos, cujo potencial mutagênico e/ou carcinogênico ainda é bastante controverso é o herbicida glifosato, que pertencente à classe dos organofosforados (JAMES, 2011; COUTINHO; MAZO, 2005), sendo o princípio ativo de alguns dos agrotóxicos mais utilizados a nível mundial. É um herbicida de pós-emergência, de largo espectro, não seletivo, capaz de controlar várias ervas daninhas (DUKE, 2011).

A atividade agrícola é altamente dependente do uso de formulações comerciais a base de glifosato e isso tem sido cada vez mais evidente devido à enorme percentagem de plantas geneticamente modificadas que foram formuladas, para tolerarem altos níveis de glifosato (VERA-CANDIOTI et al., 2013).

A toxicidade aguda deste herbicida é considerada baixa (classe III) de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS). Mas há controvérsias entre diversos autores quanto à toxicidade aguda e ainda mais em relação a toxicidade crônica, tanto que recentemente este herbicida foi classificado como provável produto cancerígeno para humanos (Grupo 2A) pela International Agency for Research on Cancer (IARC, 2015) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016, BLAIR et al., 2015).

Estudos têm sido feitos relacionando a exposição ao herbicida glifosato à tumorigênese e alterações genéticas. O trabalho de revisão realizado por Guise, Oliveira e Prioli (2016) constatou, a partir de uma meta-análise de 93 trabalhos, que a exposição ao glifosato está relacionada à formação de Micronúcleos (MN). López e colaboradores (2012), relatam que a exposição ao glifosato pode aumentar a incidência de câncer, além de afetar células embrionárias e placentárias, induzir a desregulação endócrina, produzir dano mitocondrial, necrose e morte celular programada, além de danos em linhagens celulares. Sanchez et al (2017) analisando diferentes formulações de glifosato, também constatou que o mesmo pode causar inibição da enzima acetilcolinesterase e perda da qualidade do esperma na espécie de peixe *Jenynsia multidentata*.

Outro estudo relevante neste sentido é o de Chang e Delzell (2016) que, em uma meta-análise conduzida por investigadores da IARC, foi encontrada uma associação entre o uso de glifosato e o Linfoma Não-Hodgkin.

Para determinar efeitos genotóxicos provocados por agroquímicos vários testes citogenéticos são utilizados por pesquisadores. Estes testes detectam danos nos cromossomos e alterações no ciclo celular em organismos expostos aos mesmos (ALBERTINI et al., 2000; DUTRA, 2002). Em humanos este teste pode ser usado através da análise das células da mucosa bucal, que são sensíveis a substâncias que interagem com o DNA na fase da mitose.

O teste do micronúcleo (MN) é o teste mais bem estabelecido e comumente usado para avaliar mutagenicidade causada por um grande espectro de substâncias. Ele mostra grande potencial por ser de fácil execução, não oneroso e bom indicador de contaminação química em organismos. MN é classificado como uma pequena massa de cromatina encontrada fora do núcleo originada a partir da quebra de cromossomos na fase da mitose (FENECH, 2007).

Essa massa de DNA extra-nuclear é pequena, arredondada com a mesma aparência e refração do material nuclear. Embora exista um nível basal de formação espontânea de MN na maioria das espécies, a exposição de organismos a substâncias clastogênicas, como alguns pesticidas, mostraram aumentar a frequência de MN em ensaios laboratoriais (MANAS et al., 2009; BOMBAIL et al., 2001; GRISOLIA, 2001; GUILHERME et al., 2010; GUISE, OLIVEIRA e PRIOLI (2016).

A relação entre a formação destas aberrações cromossômicas estruturais e o aparecimento de neoplasias malignas ou mesmo lesões pré-neoplásicas ainda não é bem conhecida (STICH et al., 1984). Sabe-se que, para a formação de alterações genéticas e translocações cromossômicas, seriam necessários anos de lise nas moléculas de DNA associadas a carcinógenos específicos.

Entretanto, os eventos que estão relacionados com a formação do micronúcleo, podem ocasionar ativação de proto-oncogenes ou deleção de genes supressores de tumor, culminando com a degeneração maligna (GERSTER, 1996.) A potencialidade em identificar células com defeito cromossômico atribui ao teste MN a possibilidade de ser utilizado como marcador biológico da exposição a carcinógenos. Através de seu aparecimento, pode-se avaliar o grau de comprometimento da mucosa bucal, bem como propor protocolos de prevenção.

Da mesma forma, alterações nucleares (AN) como brotos (amplificação gênica), cariólise (necrose), cariorréxe (fases finais e iniciais de apoptose), cromatina condensada (indução a apoptose) e a presença de dois núcleos (falha na citocinese), podem ser consideradas marcadores biológicos da cinética da divisão celular (HOLLAND et al., 2008).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar as células da mucosa bucal de agricultores familiares expostos ao herbicida glifosato, da cidade de Cerro Largo, RS, através do teste de micronúcleos e alterações nucleares.

MATERIAL E MÉTODOS

Para esta análise as amostras foram coletadas entre os meses de outubro e novembro de 2017, que corresponde à época do ano onde ocorre a aplicação do herbicida glifosato em grande escala no município de Cerro Largo, localizado na região das Missões, Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.

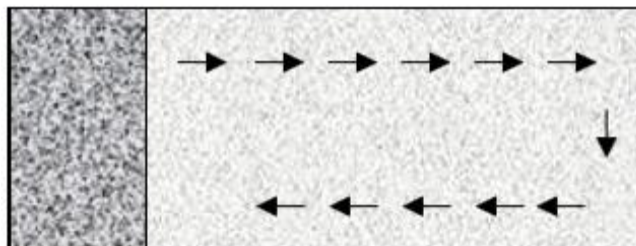
Para realizar a coleta da amostra, foram selecionados 10 indivíduos para o grupo teste (identificados com a letra T) não fumantes e não alcoólicos que utilizaram e aplicaram o herbicida glifosato e 10 indivíduos para o grupo controle (identificados com a letra C) não fumantes, não alcoólicos e que não utilizaram o glifosato nos últimos seis meses, entre a faixa etária de 25 e 50 anos, de ambos os sexos. Os indivíduos selecionados são todos agricultores familiares, residentes no município de Cerro Largo, município este pertencente a região das Missões, Noroeste do estado do Rio Grande do Sul. Esta região está entre as que mais utiliza agroquímicos no estado, além de possuir elevado índice de casos de câncer. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da UFFS (CAAE: 65029417.0.0000.5564).

As células da mucosa bucal foram coletadas com uma espátula de madeira, por um único operador, que retirou material da região interna de cada bochecha, nos bordos da língua e no assoalho bucal de cada indivíduo. Foram confeccionadas três lâminas de cada região da boca, totalizando nove lâminas por indivíduo. Após cada coleta as lâminas foram acondicionadas em porta lâminas com metanol a 0°C. O material foi analisado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFFS, *campus* Cerro Largo, RS.

Após a fixação em metanol as lâminas foram tratadas com ácido clorídrico (HCL 1N) por 12 minutos a 60°C, sendo então lavadas delicadamente com água

destilada por 10 minutos. Em seguida, procedeu-se a coloração das lâminas com Giemsa. Foram contadas 2000 células por lâmina conforme representado no esquema 1.

Esquema 1: Esquema ilustrativo do método de leitura das lâminas.



A análise das lâminas foi realizada com a utilização de Microscópio Óptico com captura de imagem em aumento de 400x, sendo que mediante dúvidas quanto à presença de micronúcleos foram analisadas em aumento de 1000x. A classificação e contagem de micronúcleos seguiram protocolo sugerido por Tolber et al. (1992), onde foi computado somente as células com núcleos intactos e bem visíveis, com perímetro liso e distinto e com citoplasma bem definido. Para contagem de MN o critério utilizado foi a presença de halo homogêneo circundante, que determina a membrana nuclear, menos de 1/3 do diâmetro do núcleo central, mesmo plano focal à microscopia e que não tivessem nenhuma ligação com o núcleo.

Além do MN, foram contabilizadas as Alterações Nucleares (AN) que também sugerem danos nos processos de divisão celular e degeneração. As alterações analisadas foram: *brokenegg*, binucleação, cariólise e cariorrexe.

Os resultados da frequência de MN e AN foram analisados pelo método estatístico Kruskal-Wallis com grau de significância de 5%. As adequações do teste estatístico foram realizadas em consonância aos dados coletados para melhor exposição dos resultados.

RESULTADOS

Um total de 6000 células foram analisadas por indivíduo. Os resultados da frequência de MN obtidos a partir desta contagem de células da mucosa bucal dos agricultores familiares expostos ao glifosato (T) e controle (C) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Número de micronúcleos (MN) em 2000 células de cada uma das três regiões da mucosa bucal de agricultores expostos ao herbicida glifosato e grupo controle do município de Cerro Largo, RS.

INDIVÍDUOS GRUPO TESTE- MN/2000										
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
BORDOS DA LÍNGUA										
MN	2	6	3	2	2	4	3	2	1	2
BOCHECHA										
MN	3	5	5	1	3	4	3	3	3	3
ASSOALHO BUCAL										
MN	2	2	3	1	3	2	4	2	2	2
Total de MN/6000	7	13	11	4	8	10	10	7	6	7
INDIVÍDUOS GRUPO CONTROLE										
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
BORDOS DA LÍNGUA										
MN	1	0	1	2	2	0	1	1	1	0
BOCHECHA										
MN	1	1	2	1	1	1	1	1	0	1
ASSOALHO BUCAL										
MN	1	1	1	0	0	1	2	1	1	1
Total de MN/6000	3	2	4	3	3	2	4	3	2	2

FONTE: Elaborado pela autora, 2018.

Foi observado na tabela 1 que no grupo teste houve maior frequência de MN em relação ao grupo controle. No grupo teste o indivíduo T2 teve o maior número de MN (13), seguido do indivíduo T3 com 11 MN, T6 e T7 com 10 MN, T5 com 8 MN, T1, T8 e T10 com 7 MN.

Em relação ao grupo controle os indivíduos C3 e C7 apresentaram a maior frequência de MN do grupo controle com 4 MN, seguidos dos indivíduos C1, C4, C5 e C8 com 3 MN e os indivíduos C2, C6, C9 e C10 apresentaram a menor frequência, com 2 MN.

Na tabela 2 encontram-se as alterações celulares binucleação, *brokenegg*, cariólise e cariorrexe presentes na mucosa bucal dos agricultores do grupo teste e dos agricultores do grupo controle.

Tabela 2: Número de alterações celulares em 2000 células de cada uma das três regiões da mucosa bucal de agricultores expostos ao herbicida glifosato e controle do município de Cerro Largo, RS.

INDIVÍDUOS GRUPO TESTE										
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10
BORDOS DA LÍNGUA										
<i>Brokenegg</i>	0	3	0	1	0	1	2	1	1	1
Binucleação	3	9	4	4	5	7	6	2	3	6
Cariólise	3	1	3	3	2	4	2	3	3	2
Cariorrexe	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1
BOCHECHA										
<i>Brokenegg</i>	0	1	3	0	1	1	1	2	1	1
Binucleação	5	10	10	3	5	6	8	6	9	5
Cariólise	3	5	5	3	3	2	3	2	1	2
Cariorrexe	0	1	0	1	0	1	0	1	2	0
ASSOALHO BUCAL										
<i>Brokenegg</i>	0	0	1	0	1	1	2	1	1	1
Binucleação	5	4	5	5	5	5	7	5	5	5
Cariólise	3	2	5	2	4	3	4	3	3	6
Cariorrexe	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
INDIVÍDUOS GRUPO CONTROLE										
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
BORDOS DA LÍNGUA										
<i>Brokenegg</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Binucleação	4	2	1	2	4	2	3	1	4	3
Cariólise	2	2	1	2	2	2	2	2	3	2
Cariorrexe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BOCHECHA										
<i>Brokenegg</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Binucleação	1	3	2	1	3	2	5	2	1	3
Cariólise	2	2	1	2	2	1	3	1	2	2
Cariorrexe	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ASSOALHO BUCAL										
<i>Brokenegg</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Binucleação	2	2	2	1	2	3	4	2	2	2
Cariólise	3	1	2	3	2	2	1	1	3	3
Cariorrexe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

FONTE: Elaborado pela autora, 2018.

Com base nos dados da tabela 2, observa-se que o grupo teste apresentou maior frequência de alterações celulares em relação ao controle, o indivíduo T7 apresentou a maior quantidade de *brokenegg* (5), seguido dos indivíduos T2, T3 e T8 com quatro

brokeneggs e o indivíduo T1 foi o único que não apresentou esta alteração celular. Em relação ao grupo controle a maioria dos indivíduos não apresentou esta alteração celular

Quanto a binucleação, o indivíduo T2 apresentou a maior quantidade (23 células binucleadas), e T4 a menor (12), no grupo controle, C7 apresentou a maior quantidade (12) e C4 a menor quantidade (4).

Em relação a cariólise no grupo teste, o indivíduo T3 apresentou a maior quantidade (13) e o indivíduo T9 a menor (7), já no grupo controle C8 apresentou a maior quantidade (8) e os indivíduos C3 e C8 a menor quantidade (4).

A alteração celular cariorrexe não apareceu de forma expressiva, tanto no grupo teste quanto no controle, muitos indivíduos não apresentaram tal alteração.

O resultado da aplicação do teste Kruskal-Wallis para verificar a frequência de MN no grupo teste e no grupo controle, está representado na tabela 3.

Tabela 3: Comparação entre o total de MN no grupo teste e no controle em 6000 células analisadas.

MICRONÚCLEOS						
GRUPO	N	$\bar{x} \pm DP$	Md	Min	Max	P#
TESTE	10	8,3±2,67	7,5	4	13	0,0002
CONTROLE	10	2,8±0,79	3,0	2	4	

FONTE: elaborado pela autora, 2018.

p relativo ao teste de Kruskal Wallis.

N (número de indivíduos); \bar{x} (média); DP (desvio padrão); Md (mediana); Min (menor número encontrado); Max (maior número encontrado).

O resultado do teste Kruskal Wallis mostrou que o grupo teste e o controle apresentaram diferenças significativas ($P=0,0002$) quanto a frequência de MN. Mostrou, ainda, que o número médio de MN encontrado no grupo dos agricultores expostos ao glifosato foi maior ($8,3 \pm 2,67$) que no grupo controle ($2,8 \pm 0,79$). Os dados obtidos na tabela 3 mostram ainda que a mediana do grupo teste é maior (7,5) que do controle (3,0).

A tabela 4 apresenta os dados do teste Kruskal Wallis que estabelece as alterações celulares encontradas nos indivíduos que estão expostos ao herbicida glifosato em relação ao grupo controle.

Tabela 4: Comparação entre o total de alterações celulares no grupo teste e no controle através do teste estatístico de Kruskal Wallis em 6000 células analisadas.

ALTERAÇÕES CELULARES	
TESTE	CONTROLE

	Min	Max	\bar{x}	Min	Max	\bar{x}	P#
Brokenegg	0,0	5,0	7,2	0,0	1,0	0,4	0.001
Binucleação	12	23	16,7	4,0	12	7,1	0.0001
Cariólise	7	13	9	4	8	5,9	0.0004
Cariorrexe	0,0	1,0	0,4	0,0	1,0	0,1	0.131

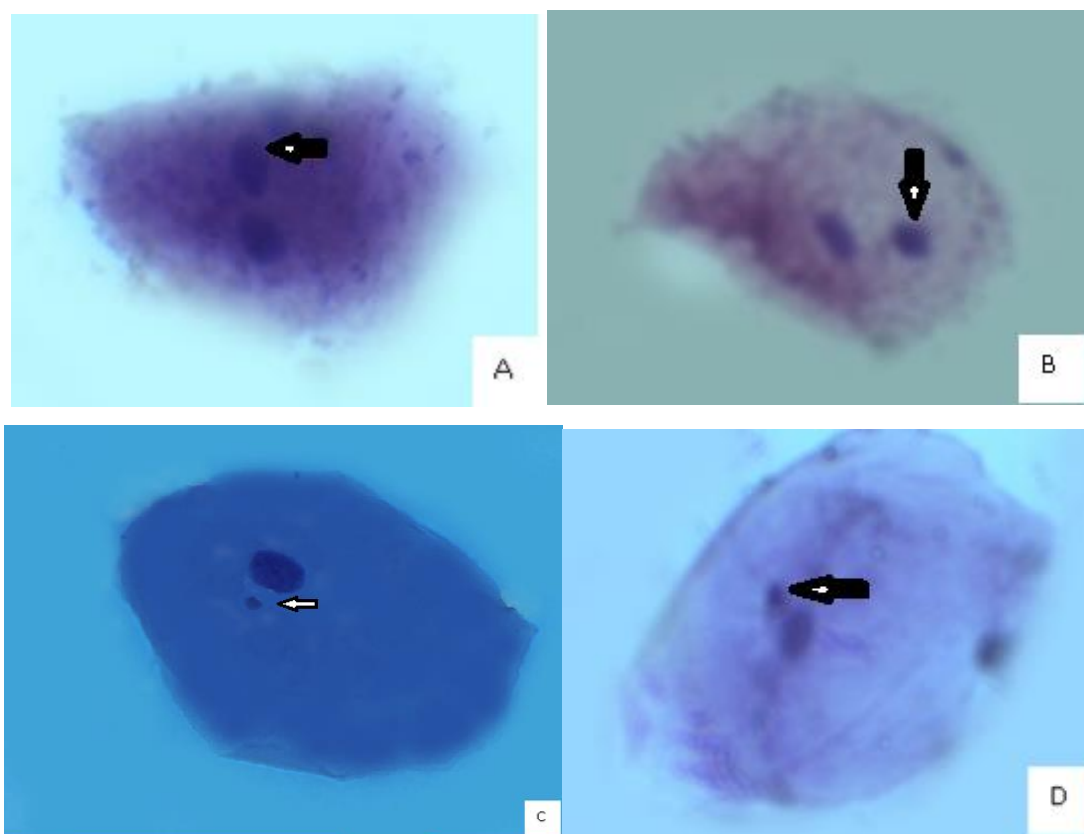
FONTE: elaborado pela autora, 2018.

p relativo ao teste Kruskal Wallis.

\bar{x} (média); Min (menor número encontrado); Max (maior número encontrado).

O número médio de *brokenegg* no grupo dos agricultores expostos ao glifosato foi maior (7,2) que no grupo controle (0,4), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$).

Os resultados do teste Kruskal Wallis mostraram que em relação a binucleação também houve diferença significativa ($p=0,0001$), assim como a média de cariólise foi maior no grupo teste (9) em relação ao controle (5,9), sendo esta diferença significativa ($p=0,0004$). Porém, na cariorrexe não houve diferença significativa ($p=0,13$) entre o grupo teste e o controle. As fotomicrografias a seguir (Figura 1) ilustram os tipos de alterações encontradas em células esfoliadas da mucosa dos indivíduos do grupo controle e do grupo teste.



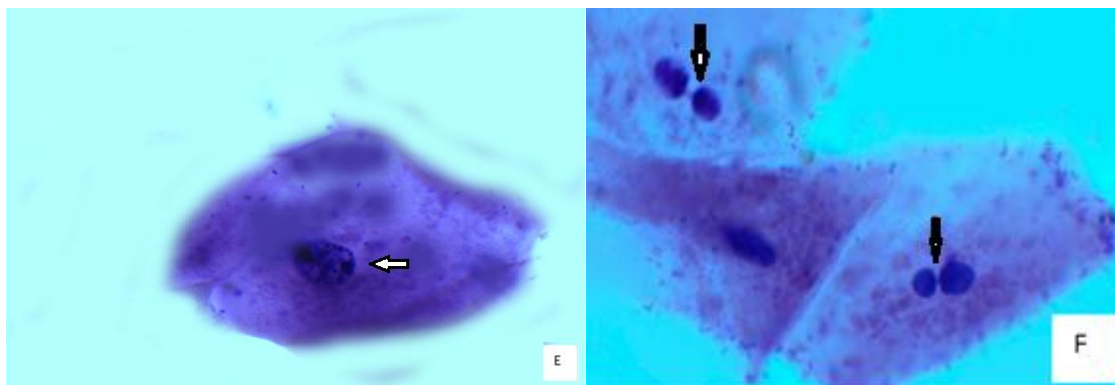


Figura 1: Células esfoliadas da mucosa oral, corada por Giemsa. Nota: Em A e B presença de binucleação (1000x), C e D micronúcleo (1000x), E cariólise (1000x) e F *brokeneggs*.

DISCUSSÃO

Ao comparar os resultados obtidos entre o grupo exposto ao herbicida glifosato e o controle, percebe-se que a frequência de MN é estatisticamente significativa ($p=0,0002$) no grupo exposto em relação ao controle. Diante disso podemos pressupor que o herbicida glifosato, ou os outros componentes especificados na bula como “inertes”, tenham interagido com as células da mucosa bucal nesses indivíduos.

Percebe-se que o número de MN encontrado no esfoliativo da mucosa do indivíduo T2 é superior aos outros indivíduos do mesmo grupo, sugerindo que o mesmo sofreu maior exposição ao glifosato nos dias da coleta. Nos achados de Frison et al. 2005 observa-se que indivíduos com maior tempo de exposição apresentaram maiores índices de MN.

Esses dados são preocupantes visto que é considerado normal quando encontrado de um, no máximo dois MN a cada 2000 células (CEPPI et al; 2010) e neste caso, foram encontrados valores acima desses índices. Foram analisadas 6000 células de três regiões da boca (bordas da língua, assoalho bucal e bochecha), assim, os indivíduos que apresentaram 6 MN ou mais já são considerados como grupo de risco, ou seja, que vêm sofrendo alterações celulares em virtude de agentes genotóxicos.

O material coletado para este estudo coincidiu propositalmente com a época de aspersão do herbicida em função do início da cultura da soja, desta forma é importante pontuar que os danos observados devem ser classificados como agudos. Sabe-se que o período de renovação celular do epitélio bucal é aproximadamente 25 dias, assim sendo

a formação de MN deve ser considerada um dano citogenético agudo e local (SUHAS et al., 2004).

Fenech (2011) reporta que a avaliação de MN e outras anormalidades em células epiteliais tem sido utilizada para identificar danos genéticos em seres humanos que estão em situações de exposição acidental ou ocupacional, a fim de avaliar a detecção precoce de doenças relacionadas a desordens genéticas. Bloching et al. (2000) sugeriram que a presença de MN na mucosa bucal pode ser preditivo de risco de câncer nas vias aerodigestivas superiores, incluindo as fase pré-malignas, como leucoplasia oral.

É importante pontuar que ainda não está claro na literatura científica se uma elevada frequência de MN no epitélio oral, pode ser preditor para maior risco de câncer apenas na cavidade oral, limitado ao epitélio do trato digestivo superior ou pode ser projetada para vários tipos de câncer em outras partes do corpo (HOLLAND, et al., 2008). Diante dos pressupostos acima, os indivíduos dessa pesquisa, expostos ao defensivo glifosato e com alta contagem de MN podem estar sujeitos a desenvolverem processo tumoral ao longo do tempo.

Os nossos achados vêm de encontro a vários outros estudos tais como os resultados de Dutra (2002), que ao avaliar agricultores de Ijuí e São Luiz Gonzaga, RS, constatou que o grupo exposto aos agrotóxicos, dentre eles o herbicida glifosato, teve uma frequência mais elevada de MN em células epiteliais da mucosa bucal do que os indivíduos do grupo controle.

Dados semelhantes aos achados nesse estudo, são verificados no trabalho de Pacheco e Hachel (2002), onde encontraram aumento significativo de células com MN no grupo exposto, o trabalho objetivou determinar a prevalência de micronúcleo em linfócitos do sangue periférico de trabalhadores agrícolas expostos a agrotóxicos, principalmente os herbicidas e fungicidas, em Passo Fundo, RS.

Gómez-Arroyo et al (2000) analisaram células da mucosa bucal e encontraram aumento na frequência de MN em agricultores expostos a diversos agroquímicos, como herbicidas e fungicidas. Resultados semelhantes são descritos por Sailaja et al (2006) que ao avaliar a frequência de MN na mucosa bucal de 54 indivíduos expostos a agrotóxicos, dentre eles o herbicida glifosato, constatou um aumento significativo na frequência de MN. No estudo de Chaves (2011) o aumento na frequência de MN foi significativo ($p > 0,001$) nos indivíduos expostos aos agrotóxicos, dentre eles o herbicida glifosato.

Porém, os resultados encontrados neste estudo divergem dos encontrados por Pastor et al. (2003), que analisando MN em células de mucosa bucal de agricultores expostos a diversos agrotóxicos não encontrou um aumento significativo de MN.

A mucosa bucal é bastante sensível às substâncias que possuem propriedades tóxicas à célula animal. Podemos observar este fato quando encontramos relatos de estudos com fumantes e alcóolicos, como no estudo de Batista e Júnior (2014) que em seus resultados evidenciaram que os indivíduos amostrados do grupo exposto (fumantes) que fazem uso de álcool (aproximadamente 87%), potencializam o incremento de micronúcleo. O consumo de álcool associado ao uso de tabaco, já foi descrito na literatura como sendo potencializador dos efeitos do tabaco. Este sinergismo foi evidenciado nos estudos de Stich (1987) e Ghose e Parida (1995), onde avaliaram uma frequência aumentada dos micronúcleos em pacientes que faziam uso de tabaco e álcool simultaneamente.

As alterações nucleares analisadas neste trabalho tiveram como objetivo observar se, além do aparecimento de MN, o epitélio da mucosa também apresentaria lesões compatíveis com necrose que sugerem a presença de fatores que levam a morte celular. A necrose celular pode ser induzida por produção de radicais livres, agentes químicos e/ou toxinas que agem diretamente sobre enzimas ou ciclo celular, além de agressão direta à membrana plasmática (KUMAR, et al, 2011). Sabe-se, pela literatura, que os critérios de malignidade para classificação dos esfregaços são: irregularidade de contorno nuclear, multinucleação, figuras aberrantes de mitose, aumento de nucléolos, presença de vacúolos no citoplasma, pleomorfismo celular e aumento do tamanho da célula (CARVALHO, 1995; CARVALHO 2002).

Realizando a comparação entre o grupo exposto ao glifosato e o grupo controle, é possível perceber que a frequência de alterações celulares (*brokenegg*, binucleação, cariólise e cariorrexe) é maior no grupo exposto em relação ao controle, sendo esta diferença estatisticamente significativa para as alterações celulares *brokenegg*, binucleação e cariólise ($p=0,001$, $p=0,0001$ e $p=0,0004$, respectivamente) e não sendo significativo para a alteração celular cariorrexe ($p=0,13$).

Nota-se que o indivíduo T2, assim como no teste de MN, apresentou um maior número de células binucleadas. Esse evento está relacionado ao processo final da mitose, especificamente no atraso da telófase e citocinese. Alterações na mitose podem ser induzidas por substâncias que interferem diretamente no ciclo celular como ocorre

com as drogas antineoplásicas (KIKUSHI e PINTO, 2006) bem como nos eventos que regulam as várias etapas de equivalência do material genético.

O estudo realizado por Ergene et al. (2007), está em consonância com os resultados apresentados neste trabalho, visto que, analisando a frequência de aberrações cromossômicas (AC), micronúcleos (MN), cariorrexe (CR), cariólise (CL) e células binucleadas (BN), foi observado um aumento de tais alterações genéticas no grupo de agricultores expostos aos agrotóxicos em relação ao grupo controle.

Os resultados de Benedetti et al (2013) também observaram a ocorrência de danos ao DNA em trabalhadores rurais da cidade de Espumoso, RS expostos a agrotóxicos, que também mostrou aumento na frequência de MN, células binucleadas e de cariólise.

Diante desses resultados, podemos inferir que os agricultores expostos ao glifosato estão susceptíveis a danos genéticos. Marcadores biológicos podem refletir exposição a carcinógenos e sua interação com macromoléculas, como o DNA. Como essas interações de químicos com DNA são reconhecidamente o primeiro passo na iniciação de tumorigênese, maior ênfase deve ser dada aos métodos que detectam a atividade genotóxica em humanos para avaliação dos riscos desses indivíduos bem como fazer uso deles para estabelecer estratégias de monitoramento.

Seria importante que novas avaliações desse grupo de risco sejam feitas em períodos pré-estabelecidos, a fim de monitorar os danos que podem levar ao surgimento de linhagens tumorais.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados neste trabalho, utilizando o teste de MN, fornecem ainda informações claras que os indivíduos pesquisados apresentam riscos de instabilidade genética associado ao uso do herbicida glifosato. O teste utilizado se mostrou muito eficiente para a análise de danos citogenéticos na mucosa bucal.

Ao final desse estudo, verifica-se que poderia ter sido investigado outros fatores que interferem na incidência de MN e das alterações celulares. O estudo contribuiu para o reconhecimento de que possivelmente o uso de agroquímicos como o herbicida glifosato provoca danos celulares aos agricultores expostos. Salienta-se a necessidade de estudos posteriores que reavaliem a toxicidade de agroquímicos entre eles o glifosato.

REFERÊNCIAS

ALBERTINI RJ, et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat Res.* 2000;463: 111 – 172.

BATISTA CR, JÚNIOR EOC. Avaliação da genotoxicidade em células de pacientes fumantes e não fumantes por meio do teste do micronúcleo. *Getec.* 2014;3:(6):49-58.

BENEDETTI N, et al. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutat Res Genetic Toxicology and environmental Mutagenesis.* 2013.

BERTRAM JS. The molecular biology of cancer. *Mol Aspects Med.* 2001;21:167-223.

BOMBAIL V, Aw, D, GORDON E, BATTY J. Application of the comet and micronucleus assays to butter fish (*Pholis gunnellus*) erythrocytes from the Firth of Forth. *Scotl. Mol. Toxicol.* 2001;44:383-392.

BLOCHING M. et al. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aero digestive tract using the mn-assay. *Oral Onc.* 2000;36: 550-555.

CARVALHO G. *Citologia oncológica.* Editora Atheneu. São Paulo, 1995;312.

CARVALHO G. *Citologia oral.* Editora Revinter Ltda. Rio de Janeiro. 2002;1ª: 159.

CHANG ET, DELZELL E. Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. *Journal of Environmental Science and health.* 2016;51 (6): 402–428.

CHAVES TVS. Estudo das alterações hematológicas, bioquímicas e genotóxicas induzidas por agrotóxicos em agricultores do estado do Piauí. Tese de doutorado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2011;p. 210.

CIPPE A, et al. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutat. Res,* 2010;705(1):11-19.

DUKE S. Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and susceptible crops and weeds. *Agric. Food. Chem.* 2011;59:5835- 5841.

DUTRA G P. Avaliação Genotóxica dos Agrotóxicos em Trabalhadores Rurais da Região de Ijuí e São Luis Gonzaga, RS, Utilizando o Teste de Micronúcleos. Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia, 2002.

ERGENE S, et al. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Goksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ. Int.* 2007;33:877-885.

FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nat. Protoc. 2007;2: 1084-1104.

FENECH M, et al. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. Mutag. 2011;26 (1):125-32.

FERREIRA, H. S. Pesticidas no Brasil: impacto ambiental e possíveis conseqüências de sua interação com a desnutrição humana. RBSO. 1999;80 (21):51-60.

FRISON, R.; MACEDO, S. M. D.; BOEIRA, J. M. Avaliação genotóxica em células da mucosa bucal de trabalhadores expostos a agrotóxicos, em uma comunidade de Erechim, RS. Persp. 2005;29:127-135.

GERSTER H. Intermediate cancer bio-markers and their use in beta-carotene studies humans. Int J Vit Nutr Res. 1996;66(1):3-18.

GÓMEZ-ARROYO S, et al. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. Mutat. Res. 2000;466:117-124.

GRISOLIA C K. Agrotóxicos; mutações, câncer e reprodução. Brasília: ELBRA, 2005: 394.

GUILHERME S, et al. European eel (*Anguilla anguilla*) genotoxic and pro-oxidant responses following short-term exposure to Roundup-a glyphosate-based herbicide. Mutag. 2010;25:523-530.

GUISE N. C, OLIVEIRA E. C., PRIOLI A. J. N.C. Does exposure to glyphosate lead to an increase in the micronuclei frequency? A systematic and meta-analytic review. Chemosp. 2016;145:42-54.

GHOSE U.R.; PARIDA, B.B. Cytological study of exfoliated buccal mucosa cells of tribes in Orissa State (India) with high risk for oral cancer. Indian J. of Cancer. 1995;32: 95-99.

HOLLAND N., et al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN Project perspective on current status and knowledge gaps. Mutat. Res. 2008;659:93-108.

JAMES C. Global status of commercialized biotech/GM crops. In: International service for the acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA). Ithaca, NY, 2011. Disponível em: <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/download/isaaa-brief-43-2011.pdf>.

KIKUCHI IS, PINTO TJA. Clinical implications of mutagenic antineoplastic drugs. Rev. Bras. Med. 2000;63(5):201-205.

KUMAR V, et al. Patologia humana. Es, Elsevier Google livros, 2011.

LÓPEZ, S. L. AIASSA, D.; BENÍTEZ-LEITE, S.; LAJMANOVICH, R.; MAÑAS, F.; POLETTA, G.; SÁNCHEZ, N.; SIMONIELLO, M.F.; CARRASCO, A.E. Pesticides

Used in South American GMO-Based Agriculture: A Review of Their Effects on Humans and Animal Models. *Advances in Molecular Toxicology*, v.6, p.41-75, 2012.

MANAS F, et al. Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2009;28:37-41.

MESNAGE R, et al. Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. *Food Chem Toxicol.* 2017;108:30-42.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. v. 1, Brasília DF, 2016.

PACHECO AO, HACHEL C. Instabilidade cromossômica induzida por agroquímicos em trabalhadores rurais na região de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Públ.* 2002;18(6):1675-1683.

PASTOR S, et al. Biomonitoring of four Europe an populations occupationally exposed pesticides: une of micronuclei as biomarkes. *Mutat. Res.* 2003;18(3):249-258.

SAILAJA MN, et al. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat. Res.* 2006;609:74-80.

SANCHEZ JAA, et al. Effects of Roundup formulations on biochemical biomarkers and male sperm quality of the liver bearing *Jenynsia multidentata*. *Chemosp.* 2017;177: 200-210.

STICH HF. Micronucleated exfoliated cells as indicators for genotoxic damage and as markers in chemoprevention trials. *J. of Nutrition, Growth and Cancer.* 1987;4 (1): 918.

STICH HF, ROSIN M, VALLEJERA MO. Reduction with vitamin A and beta-carotene administration of proportion of micronucleated buccal mucosa cells in Asian betel nut and tobacco chewers. *Lancet.* 1984;1(8388):1204-06.

SUHAS, S. eta al. Application of the micronucleus test to exfoliated epithelial cells form the oral cavity of beedi smokers, a high-risk group for oral cancer. *Mutat. Res.* 2004;561 (1-2):15-21.

TOLBER, P. E.; et al. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res.* 1992; 271:69-77.

VERA-CANDIOTI, J., SOLONESKI, S., LARRAMENDY, M.L., Evaluation of the genotoxic and cytotoxic effects of glyphosate-based herbicides in the ten spotted live bearer fish *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1942). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2013;89:166-173.

4 CONCLUSÕES

Os dados sociodemográficos demonstraram baixo nível de escolaridade e idade elevada, a maioria (37 indivíduos) está na faixa etária entre 51-60 anos. O uso do Glifosato, é realizado por 62,5% dos agricultores, principalmente nas culturas de soja e milho, sendo que, a maioria utiliza o mesmo entre 5-10 anos (26,66%). Em relação aos casos de câncer na família, 62 agricultores (51,66%) relataram que já tiveram ou tem casos de câncer em suas famílias, sendo que a maior incidência é de câncer de mama e intestino (10 casos de cada).

Verificou-se que a característica sociodemográfica faixa etária não apresentou associação com a utilização do glifosato e com os casos de câncer dos agricultores do município de Cerro Largo e de seus familiares.

Apesar da maioria dos agricultores utilizarem o herbicida glifosato a vários anos, não constatou-se associação significativa entre o tempo de uso do glifosato e os casos de câncer nestes agricultores e em seus familiares, assim como, entre os casos de câncer e a utilização do glifosato.

Embora que fenotipicamente a população em estudo não apresentou significância entre a exposição ao glifosato e a incidência de câncer, ao analisar parte desta mesma população genotipicamente constatou-se que a exposição ao glifosato causa danos citogenéticos/alterações celulares nestes agricultores, esta constatação pode ser observada por meio do teste de MN onde foi identificada frequência elevada de MN no grupo de agricultores expostos ao glifosato em relação ao controle. Além da frequência de outras alterações celulares de forma altamente significativa, brotos nucleares, binucleação, cariólise, não houve apenas diferença significativa na alteração celular cariorrexe.

Com a comparação destes resultados constata-se que os agricultores em estudo acreditam que o uso de agrotóxicos, entre eles o glifosato, não está relacionado a eventuais problemas de saúde, mas por meio do teste de MN da mucosa bucal destes agricultores verificou-se que esta concepção é errônea, ou seja, que o uso exacerbado de agroquímicos esta sim causando sérios danos citogenéticos nesta população, que futuramente podem causar outros problemas a saúde destes agricultores, como o câncer.

Ao final dessa pesquisa, verifica-se que poderiam ter sido melhor discutidas as questões referentes aos casos de intoxicação ao herbicida glifosato, pois não abordaram o período em que os sintomas ocorreram, além disso, em muitos casos não houve confirmação médica dos casos de intoxicação. Também poderia ter sido investigado outros fatores que interferem na incidência de MN e demais alterações celulares.

Além disso, considera-se que o tamanho amostral (n) foi restrito a população de Cerro Largo, desta forma, pode não ter sido suficiente.

O estudo contribuiu para o reconhecimento da existência de fatores de risco associado ao uso do glifosato à saúde dos trabalhadores rurais deste município. Salienta-se a necessidade de estudos posteriores que aprofundem os casos de intoxicação tanto aguda quanto crônica, além de novos estudos que reavaliem a toxicidade de agroquímicos entre eles o glifosato.

REFERÊNCIAS

AGEITEC, Agência EMBRAPA de informação tecnológica. Sd. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em: 07 out. 2016.

ALBERTINI, R. J.; ANDERSON, D.; DOUGLAS, G. R.; HAGMAR, L.; HEMMINKI, K.; MERLO, F.; NATARAJAN, A. T.; NORPPA, H.; SHUKER, D. E.; TICE, R.; WATERS, M. D.; AITIO, A. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. **Mutation Research**. v. 463, p. 111 – 172, 2000.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.; WILSON, J.; HUNT, T. **Biologia Molecular da Célula**. 5 ed. Artmed, Porto Alegre, 2017.

ANDREOTTI, G., KOUTROS, S.; HOFMANN, J.N.; SANDLER, D.P.; LUBIN, J.H., LYNCH, C.F.; LERRO, C.C.; DE ROOS, A.J.; PARKS, C.G.; ALAVANJA, M.C.; SILVERMAN, D.T.; BEANE FREEMAN, L.E. Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 110, n. 5, p. 1 – 8, 2018.

BEDOR, C. N. G. **Estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua implicação para a vigilância da saúde**. 2008. 115 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) Fundação Oswaldo Cruz. Recife, 2008.

BLOCHING, M.; HOFMANN, A.; LAUTENSCHLÄGER, C.; BERGHAUS, A.; GRUMMT, T. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aero digestive tract using the mn-assay. **Oral Oncology**, v. 36, p. 550-555, 2000.

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. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L7802.htm. Acesso em: 07/11/16.

_____. Decreto nº 4.074, de 8 de Janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989, que 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 União, 8 jan, 2002.

BRASIL-MAPA-ANVISA-IBAMA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO-AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE). Sistema integrado de informações sobre agrotóxicos. sd. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/Carta-agrotoxicos_V2.pdf. Acesso em: 07/11/16.

BLAIR, A.; LOOMIS, D.; GROSSE, Y.; SCOCCIANI, C.; MATTOCK, H.; STRAIF, K. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, diazinon, and glyphosate. **IARC Monog**, v. 113 e 114, 2015.

BOHRER, P. L. **Avaliação das alterações citopatológicas da mucosa bucal clinicamente normal exposta a carcinógenos**. 2003. 95 p. Dissertação de mestrado (Odontologia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

BOLLER, K.; SCHMID, W. Chemical mutagenesis in mammals. **Humangenetik**, v. 11, n.1, p. 35-54, 1970.

CARNEIRO, F. F.; AUGUSTO, L. G. S.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH K.; BURIGO, A.C. Dossiê ABRASCO – Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2015.

CEVS/SES. Centro de Vigilância em Saúde da Secretaria da Saúde/Secretaria Estadual da Saúde. Relatório Final. Levantamento do uso e da criticidade dos agrotóxicos usados no Estado do Rio Grande do Sul. Talha-Mar Soluções Ambientais. 2010.

COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H. Complexos metálicos com o herbicida glifosato: revisão. **Química Nova**, v. 28, n. 6, 1038-1045, 2005.

CHANG, E. T.; DELZELL, E. Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lympho hematopoietic cancers. **Journal of Environmental Science and health**, v. 51, n. 6, p. 402–428, 2016.

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

DUTRA, G. P. **Avaliação Genotóxica dos Agrotóxicos em Trabalhadores Rurais da Região de Ijuí e São Luis Gonzaga, RS, Utilizando o Teste de Micronúcleos**. 2002, 64 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Farmácia), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2002.

EVANS, H. J. Historical perspectives on the development of the in vitro micronucleus test a personal view. **Mutation Research**, v. 392, p. 5-10, 1997.

FENECH, M.; HOLLAND, N.; CHANG, W.P.; ZEIGER, E.; BONASSI, S. The human micronucleus project – an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research**, v. 428, p. 271-283, 1999.

FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. **Mutation Research** v. 455, p. 81-95, 2000.

FENECH M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**. v. 2, p. 1084-1104. 2007.

FERREIRA, H. S. Pesticidas no Brasil: impacto ambiental e possíveis consequências de sua interação com a desnutrição humana. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 80, n. 21, p. 51-60. 1999.

GREENPEACE. Glifosato, a estrela dos agrotóxicos, proibida no Sri Lanka. Abr, 2014. Disponível em: <<https://www.greenme.com.br/informar-se/agricultura/194-glifosato-a-estrelados-agrotoxicos-proibida-no-sri-lanka>>. Acesso em 20 fev 2017.

GUYTON, K. Z.; LOOMIS, D.; GROSSE, Y.; EL GHISSASSI, F.; BENBRAHIM-TALLAA, L.; GUHA, N.; SCOCCIANI, C.; MATTOCK, H.; STRAIF, K.; Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. **Lancet Oncology**, v. 16, n. 5, p. 490-491, 2015.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, p. 57–70, 2000.

HARDELL, L.; ERIKSSON, M. A case–control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. **American Cancer Society**, v. 85, n.6, p. 1353-1360, 1999.

IBAMA. Portaria Normativa IBAMA Nº. 84, de 15 de outubro de 1996. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/servicosonline/phocadownload/legislacao/portaria_84.pdf>. Acesso em 21 jan. 2017.

IBGE. IBGE Cidades: descrição e fontes. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/por-cidade-estado-estatisticas.html?t=destaques&c=4305207>>. Acesso em 02 dez. 2017.

IBGEb. IBGE Cidades: descrição e fontes. Disponível em <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/cerro-largo/pesquisa/23/24304?detalhes=true>>. Acesso em 02 dez. 2017.

IKEDA, F. S. Resistência de plantas daninhas em soja resistente ao glifosato. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 34, n. 276, 2013.

JOBIM, P. F. C.; NUNES, L. N.; GIUGLIANI, R.; CRUZ, I. B. M. Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos: Uma contribuição ao debate. **Ciência & Saúde Coletiva** v. 15, n. 1, p. 277-288, 2010.

KIRSCH-VOLDERS, M.; SOFUNI, T.; AARDEMA, M.; ALBERTINI, S.; EASTMOND, D.; FENECH, M.; ISHIDATE, M.; J.R.; KIRCHNER, S.; LORGE, E.; MORITA, T.; NORPPA, H.; SURRALLÉS, J.; VANHAUWAERT, A.; WAKATA, A. Report from the *in vitro* micronucleus assay working group. **Mutation Research**, v. 540, p. 153-163, 2003.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. J.; MEYER, A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. **Caderno Saúde Pública**, v.18, n. 2, p. 435-445, 2002.

LONDRES, F. Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.

LÓPEZ, S. L. AIASSA, D.; BENÍTEZ-LEITE, S.; LAJMANOVICH, R.; MAÑAS, F.; POLETTA, G.; SÁNCHEZ, N.; SIMONIELLO, M.F.; CARRASCO, A.E. Pesticides Used in South American GMO-Based Agriculture: A Review of Their Effects on Humans and Animal Models. **Advances in Molecular Toxicology**, v. 6, p. 41-75, 2012.

MESNAGE, R.; PHEDONOS, A.; BISERNI, M.; ARNO, M.; BALU, S.; CORTON, J.C.; UGARTE, R.; ANTONIOU, M.N. Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. **Food and Chemical Toxicology**. v. 108, p. 30-42, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. v. 1, Brasília DF, 2016.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Agrotóxicos. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acesso em 12 ago 2017.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Brasília: Organização Pan- Americana da Saúde/OMS, 1996.

PEREIRA, J. P. **Especialização do uso de agrotóxicos por região de saúde no RS**. 2014. 121 p. Monografia do Curso de Bacharelado em Geografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2014.

PERES, F.; MOREIRA, J.C.; DUBOIS, G.S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F.; MOREIRA, J.C. **É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2003.

RAMIRES, A.; SALDANHA, P. H. Micronucleos investigation of alcoholoc patients withoral carcinomas. **Genetics and Molecular Research**, v. 1, n. 3, p. 246-260, 2002.

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.

RIO GRANDE DO SUL. Secretária Estadual da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. Agrotóxicos: impactos à saúde e ao ambiente. Porto Alegre: CEVS, 2008.

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

SAMSEL, A.; SENEFF, S. Glyphosate, pathways to modern diseases IV: cancer and related pathologies. **Journal of Biological Physics and Chemistry**, v. 15, p. 121–159, 2015.

SANTOS, T. C. R; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, 589-593, 2002.

SARTO, F.; FINOTTO, S.; GIACOMELLI, L.; MAZZOTTI, D.; TOMANIN, R.; LEVIS, A. G.. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. **Mutagenesis**, v. 2, p. 11-17, 1987.

STICH, H. F.; CRUTIS, R.; PARIDA. B. B. Application of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. **International Journal of Cancer**, v. 30, p. 553-559, 1982.

THONGPRAKAISANG, S. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 129–136, 2013.

UBESSI, L. D.; KIRCHNER, R. M.; JARDIM, V. M.; STUMM, E. M. F. Uso de equipamentos de proteção por agricultores que utilizam agrotóxicos na relação com problemas de saúde. **Revista de Enfermagem**, v. 9, n. 4, p. 7230 – 7238, 2015.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental health criteria 159; glyphosate. **Geneva**, p.177, 1994.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, n. 31, p. 117-165, 2000.

YAMADA, T.; CASTRO P. R. C. **Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas**. INFORMAÇÕES AGRONÔMICAS Nº 119, IPNI, 2007.

ZIMMERMANN, C. L. Monocultura e transgenia: impactos ambientais e insegurança alimentar. **Veredas do Direito**, v. 6, n. 12, p. 79-100, 2009.

ANEXOS

ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) ENTREVISTA.

TÍTULO DA PESQUISA: “A EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E A INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS”.

Prezado participante, você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa, que fornecerá dados para a dissertação de Mestrado intitulada: “A exposição

ao Glifosato e a incidência de câncer em agricultores familiares do município de Cerro Largo, RS". Desenvolvida por Carine Kupske, discente do Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Cerro Largo, sob orientação da Professora Dr^a Lauren Lúcia Zamin, e co- orientação da professora Dr^a Suzymeire Baroni. Sendo assim, pelo presente instrumento que atende às exigências legais, não restando qualquer dúvida a respeito do que foi lido e explicado, este projeto tem como objetivo analisar como é realizado o uso do glifosato pelos agricultores pertencentes à agricultura familiar e se este uso pode ter alguma relação com a incidência de cânceres. Pretende-se que este trabalho contribua para potencializar discussões sobre o tema e revele se há necessidade de redirecionamento de novos estudos nesta área, além de fornecer dados que poderão ser utilizados para diversos fins. Você pode aceitar ou não participar deste estudo. Você está sendo convidado a participar desta pesquisa, pois, a mesma se destina a agricultores pertencentes à agricultura familiar do município de Cerro Largo, RS. Além disso, definimos como nosso público alvo os agricultores do sexo masculino, que se encontram na faixa etária de 20 a 59 anos de idade. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo. Não há riscos de você ser identificado durante a realização da pesquisa. Caso você aceite participar, está ciente que a pesquisa se dará por meio de questionário sobre o uso do glifosato, conhecimento sobre o herbicida,

sintomas já sentidos e tempo de aplicação. Este questionário será individual no qual os participantes terão total liberdade para responder as questões conforme seu entendimento próprio, sem influência de outras pessoas. O tempo de duração do questionário é de aproximadamente 20 minutos. Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos. O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa é o de contribuir para a obtenção de dados mais precisos sobre o uso do glifosato e a incidência de cânceres, além de contribuir para o meio acadêmico. A participação na pesquisa poderá causar riscos mínimos, como o constrangimento em responder alguma pergunta do questionário. Caso isso ocorra, tal risco será contornado por meio de uma explicação clara das perguntas para minimizar este constrangimento. O pesquisador se compromete a prestar qualquer tipo de esclarecimento, antes, durante e após a pesquisa, sobre os procedimentos e outros assuntos relacionados a ela, além de retornar os resultados da pesquisa a todos os participantes. A divulgação dos resultados desta pesquisa técnico-científica será através da apresentação da dissertação do Mestrado e a publicação desta que ficará disponível para consultas futuras na UFFS, mantendo sigilo dos dados pessoais. Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Cerro Largo, _____, _____ de 2017.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Contato profissional com o (a) pesquisador(a) responsável: Tel: 55-981248282 e-mail: lauren.zamin@uffs.edu.br Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/ UFFS, Rua Major Antônio Cardoso, 590 Centro - Prédio do antigo Seminário São José CEP 97900000 Cerro Largo – Rio Grande do Sul- Brasil. Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS: Tel e Fax - (0XX) 49- 2049-3745 E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br http://www.uffs.edu.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2710&Itemid=1101&site=proppg Endereço para correspondência: Universidade

Federal da Fronteira Sul/UFFS - Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Rua General Osório, 413D - CEP: 89802-210 - Caixa Postal 181 – Centro - Chapecó - Santa Catarina – Brasil) Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Nome completo do (a) participante:
Assinatura:

Anexo 1.1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) MUCOSA BUCAL

TÍTULO DA PESQUISA: “A EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E A INCIDÊNCIA DE CÂNCER EM AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO-RS”.

Prezado participante, você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa, que fornecerá dados para a dissertação de Mestrado intitulada “A exposição ao Glifosato e a incidência de câncer em agricultores familiares do município de Cerro Largo”. Desenvolvida por Carine Kupske, discente do Mestrado em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus de Cerro Largo, sob orientação da Professora Dr^a Lauren

Lúcia Zamin e co- orientação da professora Dr^a Suzymeire Baroni. Sendo assim, pelo presente instrumento que atende às exigências legais, não restando qualquer dúvida a respeito do que foi lido e explicado, este projeto tem como objetivo analisar como é realizado o uso do glifosato pelos agricultores pertencentes à agricultura familiar e se este uso pode ter alguma relação com a incidência de cânceres. Pretende-se que este trabalho contribua para potencializar discussões sobre o tema e revele se há necessidade de redirecionamento de novos estudos nesta área, além de fornecer dados que poderão ser utilizados para diversos fins. Você pode aceitar ou não a participar deste estudo. Você está sendo convidado a participar desta pesquisa, pois a mesma se destina a agricultores pertencentes à agricultura familiar do município de Cerro Largo. Como público alvo será selecionado dois grupos, o controle e o teste. O grupo teste será composto por 10 indivíduos adultos de ambos os sexos, acima de 18 anos, não fumantes, não alcóolicos, mas que são os responsáveis em pulverizar glifosato na cultura de soja ou então vivam no mesmo local onde foi usado o produto. Outros 10 indivíduos serão o grupo controle que consiste em indivíduos acima de 18 anos, de ambos os sexos não fumantes nem alcóolicos e não tenham tido contato com glifosato nos últimos 6 meses. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização.

Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa e o material armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo. Não há riscos de você ser identificado durante a realização da pesquisa. Caso você aceite participar, está ciente que será realizada a coleta

de sua mucosa bucal com o auxílio de uma escova tipo cytobrush, o material coletado será armazenado para posterior análise. Sendo que o tempo de duração será de aproximadamente 20 minutos. Ao final da pesquisa, as lâminas contendo o material coletado serão mantidas por um período de cinco anos. O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa é o de contribuir para a obtenção de dados mais precisos sobre o uso do glifosato e a incidência de cânceres, além de contribuir para o meio acadêmico. A participação na pesquisa poderá causar riscos mínimos, como o constrangimento ou desconforto ao realizar a coleta da mucosa bucal, caso isso ocorra, tal risco será contornado por meio de uma explicação clara do porque deste procedimento. O pesquisador se compromete a prestar qualquer tipo de esclarecimento, antes, durante e após a pesquisa, sobre os procedimentos e outros assuntos relacionados a ela, além de retornar os resultados da pesquisa a todos os participantes. A divulgação dos resultados desta pesquisa técnico-científica será através da apresentação da dissertação do Mestrado e a publicação desta que ficará disponível para consultas futuras na UFFS, mantendo sigilo dos dados pessoais. Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Cerro Largo, _____, _____ de 2017.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Contato profissional com o(a) pesquisador(a) responsável: Tel: 55-981248282 e-mail: lauren.zamin@uffs.edu.br Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/ UFFS, Rua Major Antônio Cardoso, 590 Centro - Prédio do antigo Seminário São José CEP 97900000 Cerro Largo – Rio Grande do Sul- Brasil. Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS: Tel e Fax - (0XX) 49- 2049-3745 E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br http://www.uffs.edu.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2710&Itemid=1101&site=proppg Endereço para correspondência: Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS - Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Rua

General Osório, 413D - CEP: 89802-210 - Caixa Postal 181 – Centro -
Chapecó - Santa Catarina – Brasil) Declaro que entendi os objetivos e
condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Nome completo do (a) participante:

Assinatura:

ANEXO 2: Normas da Revista *Ambiência*

Normas

A Revista *AMBIÊNCIA*, com periodicidade quadrimestral, tem por objetivo divulgar artigos científicos, revisão bibliográfica (a convite), notas técnicas (a convite) e relato de caso(s) nas áreas de ciências agrárias e ambientais. Os trabalhos submetidos devem ser originais e inéditos (resultados ou enfoque), redigidos em português, inglês ou espanhol. Ao submeter um trabalho para publicação, o(s) autor(es) implicitamente declara(m) que o mesmo não foi enviado a outra revista, caso contrário, justificar em "Comentários ao Editor".

O processo de submissão de manuscrito é gratuito.

A submissão implica que o autor correspondente obteve anuência de todos os demais coautores.

Recomenda-se que o número máximo de autores e colaboradores (coautores) não seja superiores a cinco.

Quando do processo de submissão, sugere-se, que no item Resumo da Biografia preencher com os seguintes dados:

Titulação; Formação; Atividade e Instituição; Endereço; Informações que julgar importante (opcional); E-mail.

Exemplo:

Dr.; Engenheiro Agrônomo; Professor Associado do Departamento de Agronomia e do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, UNICENTRO; Endereço: Rua Simeão Varela de Sá, 03, CEP: 85040-080, Guarapuava, Paraná, Brasil; E-mail: xxxxxx@gmail.com

(*) no caso de mais de um autor mencionar o "Autor para correspondência".

Após o manuscrito ter sido analisado por membros da Comissão Editorial da Revista *Ambiência*, ele poderá ser devolvido ao(s) autor(es) para readequações às normas da Revista ou simplesmente rejeitado por não atender as exigências estabelecidas nas normas de submissão. Quando aprovado pelo(s) membro(s) da Comissão Editorial, o manuscrito será enviado para dois Consultores/Avaliadores que emitirão parecer científico.

Obs.: No caso de um parecer favorável e um desfavorável, a decisão sobre a continuidade ou não do processo de submissão será da Comissão Editorial. (Somente na rodada 1).

Layout da página --> Tamanho do papel: A4 ou Letter, espaço 1,5 linhas (exceto resumo e bibliografia --> espaço simples), margens 2 cm de cada lado.

Tipo da Fonte: Times New Roman. Tamanho da Fonte: 12.

O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês, ou Espanhol quando for o caso – Negrito, alinhado à esquerda, em caixa baixa, exceto no caso de nomes próprios e científicos - evitar abreviaturas); Resumo (em torno de 1800 caracteres com espaço); Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Considerações Finais ou Conclusão; Referências; [Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das

referências]. (O artigo todo deverá conter no mínimo dezesseis [16] e no máximo vinte e duas [22] páginas).

O texto principal dos manuscritos deverá ser formatado em uma coluna. A formatação final será realizada pelos diagramadores da Instituição.

Importante: Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um Comitê de Ética Institucional já na submissão.

Podem ser citados até cinco descritores.

Indicação de autor(es) apresentando nome(s) completo (sem abreviações), quando do preenchimento do processo de submissão na ordem em que aparecerão no trabalho final. Observação: a) Não indicar a autoria do trabalho no texto do manuscrito que será enviado aos Consultores/Avaliadores *ad hoc*. b) É de responsabilidade do autor pelo processo de submissão, bem como, do preenchimento no SEER dos demais coautores (quando exigir), portanto, não constando no SEER não serão inseridos posteriormente.

As referências devem obedecer às normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas. (NBR 6023)

A publicação de trabalhos será condicionada aos pareceres dos Consultores/Avaliadores *ad hoc*, Comissão Editorial, cabendo a decisão final ao Conselho Editorial da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO.

O autor será consultado caso seu trabalho receba parecer que proponha modificações.

Aos Consultores não será revelado o nome do(s) autor(es) e vice-versa.

Resumo

O resumo redigido pelo próprio autor do trabalho na língua original deve constituir a síntese dos pontos relevantes do trabalho, tais como: tema, problema de pesquisa, justificativa, objetivo(s), material e método proposto, os principais resultados alcançados, as conclusões e recomendações. O resumo deverá conter aproximadamente 250 palavras ou 1800 caracteres com espaço. O resumo deve ser digitado em um só parágrafo com espaçamento simples. Obs.: As pessoas se baseiam no Resumo para decidirem ler ou não o restante de um artigo. Assim, resume de maneira precisa os tópicos principais do artigo e as conclusões obtidas através do seu trabalho. Limite o número de tópicos

para evitar confusão na identificação da mensagem principal do artigo. Não inclua referências, figuras ou equações nesta seção. (Ver também a NBR 6028).

Palavras-chave: após o resumo (abstract), deve ser incluída uma relação de Palavras-chave (Key words) de, no mínimo, três e, no máximo, seis que auxiliem na identificação dos principais assuntos tratados no artigo, separadas por ponto e vírgula, todas em letras minúsculas exceto nomes próprios e científicos. (Obs.: não deverão fazer parte do título).

Citações: É a menção no texto de informação extraída de outra fonte para esclarecer, ilustrar ou sustentar o assunto apresentado. Devem ser evitadas citações referentes a assuntos amplamente divulgados, rotineiros ou de domínio público, bem como aqueles provenientes de publicações de natureza didática, que reproduzem de forma resumida os documentos originais, tais como: apostilas e anotações de aula e sites. (Ver também a NBR 10520).

Agradecimentos: para agências de fomento à pesquisa, a instituições que não a do(s) autor(es) e a eventuais orientadores ou inspiradores de trabalho poderão ser mencionados no final do artigo.

Referências: devem ser reunidas no final do artigo em uma única ordem alfabética, de acordo com a NBR 6023: Referências – Elaboração (2002). Ver aba referências.

Os originais dos artigos publicados pertencerão à Editora Universitária, da UNICENTRO. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

Os artigos serão publicados por ordem de aprovação.

O Conselho Editorial se reserva o direito de introduzir eventuais alterações nos originais, de ordem normativa, com a finalidade de manter a homogeneidade e qualidade da publicação, sem que seja necessário submeter essas alterações à aprovação dos autores.

Tabelas [NBR 14724]

Têm numeração independente e consecutiva; o título (caption) é colocado na parte superior, precedido da palavra 'Tabela' e de seu número de ordem em algarismos arábicos; nas tabelas, utilizam-se fios horizontais e verticais para separar os títulos das colunas no cabeçalho e fechá-las na parte inferior, evitando-se fios verticais para separar colunas e fios horizontais para separar

linhas; as fontes citadas, na construção de tabelas, e notas eventuais aparecem no rodapé (da tabela) após o fio de fechamento; caso sejam usadas tabelas reproduzidas de outros documentos, a prévia autorização do autor se faz necessária, não sendo mencionada na mesma; devem ser inseridas o mais próximo possível do trecho a que se referem; se a tabela não couber em uma folha, deve ser continuada na folha seguinte e, nesse caso, não é delimitado por traço horizontal na parte inferior, sendo o título e o cabeçalho repetidos na folha seguinte. (Ver também: Normas de apresentação tabular. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1993.)

Equações e fórmulas [NBR 15287 e 14724] Para facilitar a leitura devem ser destacadas no texto e, se necessário, numeradas com algarismos arábicos entre parênteses, alinhados à direita. Na sequência normal do texto, é permitido o uso de uma entrelinha maior que comporte seus elementos (expoentes, índices e outros). Exemplos:

$$x^2 + y^2 = z^2 \dots\dots\dots(1)$$

$$(x^2 + y^2)/5 = n \dots\dots\dots(2)$$

Ilustrações [NBR 14724]

Qualquer que seja o tipo de ilustração, sua identificação aparece na parte superior, precedida da palavra designativa (desenho, esquema, fluxograma, fotografia, gráfico, mapa, organograma, planta, quadro, retrato, figura, imagem, entre outros), seguida de seu número de ordem de ocorrência no texto, em algarismos arábicos, travessão e do respectivo título. Após a ilustração, na parte inferior, indicar a fonte consultada (elemento obrigatório, mesmo que seja produção do próprio autor), legenda, notas e outras informações necessárias à sua compreensão (se houver). A ilustração deve ser citada no texto e inserida o mais próximo possível do trecho a que se refere. O tamanho das figuras não deve exceder 14x21 cm, podendo ser reduzidas no processo de publicação. Dependendo da qualidade da Figura elas poderão ser solicitadas, posteriormente, em formato TIF, JPG, GIF, EPS ou CDR. Obs.: A Revista *Ambiência* possui duas formas de publicação, online e impressa, nesta última, as ilustrações em cores serão aceitas se o custo de publicação foi coberto pelo(s) autor(es).

Fotografias que possuam imagens de pessoas que permitam sua identificação deverão ser submetidas juntamente com a autorização de direito de imagem, assim como também imagens que sejam registradas ou patenteadas.

Observação: As **Figuras referentes a localização (mapa de localização da área de estudo) deverá conter obrigatoriamente as coordenadas geográficas (sistema universal de referência).**

Submissão: Somente serão recebidos manuscritos enviados através do sistema de upload online (SEER) disponível na página eletrônica da Revista *Ambiência*. Portanto, não serão aceitos manuscritos enviados por outros canais. Os manuscritos deverão, preferencialmente, apresentar a extensão .doc ou .docx, característico do emprego do editor de textos do Word.

Sugere-se que os autores verifiquem que não apareça qualquer forma de identificação no arquivo digital, em especial nas "propriedades do arquivo", sob pena de serem excluídos do processo de submissão.

ANEXO 3: Normas da Revista *Ciência e Natura*

DIRETRIZES DO AUTOR

Uma vez que o *Diário Ciência e Natura* tem um caráter interdisciplinar, é fundamental que os autores, ao enviar seus trabalhos, façam isso na seção apropriada: **STC , MTM , PSC , CMT , BLG , MTR , GSC , EDC .**

Além disso, eles devem indicar a área específica na seção "Comentário são Editor" e mencionar o título do documento ou o código de classificação de acordo com a tabela CNPq .

Os autores também devem especificar: artigo original, artigo de revisão ou artigo publicado. Os artigos que não atendem às especificações não serão aceitos .

Atualmente, este Jornal aceita submissões no formato Microsoft Word e LaTeX, de acordo com as condições para envios mencionados abaixo:

Título do artigo em português aqui

English title here

Autor Um¹, Autor Dois² e Autor Três²

¹Instituição de vínculo, Cidade, País
E-mail

²Instituição de vínculo, Cidade, País
E-mail

Resumo

O resumo em português deve conter no máximo 200 palavras

Palavras-chave: Palavra1. Palavra2. Palavra3.

Abstract

The abstract should contain a maximum of 200 words.

Keywords: Word1. Word2. Word3.

1 Introdução

2 Como incluir Figuras

As figuras devem estar preferencialmente no formato Pdf ou Tiff. Você pode incluir figuras em seu trabalho. Por exemplo, veja a Figura 1.

Você também pode incluir e referenciar subfiguras, conforme Figura 2 como Figura 2(a) e Figura 2 (b).



Figura 1 –Exemplo de figura

4 Exemplos de citações

Nonoo nono no no no Castro et al. (2001) nono nono nnono. Silva e Andrade (2002) nono nonon nonon no n, nonono, nononon nonoo (FANTUCCI, 2001; SILVA; ANDRADE, 2002)

Referências

GERAUD G, SPIERINGS EL, KEYWOOD C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache. 2002;42 Suppl 2:S93-9.

Artigos em Periódicos

Estrutura:

Título do artigo. Título do periódico. Ano de publicação; Volume(Número):Páginas.

Observações:

- Após o ano de publicação, não usar espaços.
- Usar os títulos abreviados oficiais dos periódicos. Para revistas nacionais que fazem parte da SciELO, essa informação pode ser obtida na página da própria revista, na sessão “sobre nós”. Para abreviatura de periódicos internacionais, consultar o “Index Medicus - abbreviations of journal titles” (<http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>).
- Ao listar artigos com mais de seis (06) autores, usar a expressão et al após o sexto autor.

• Artigo Padrão

VU RL, HELMESTE D, AL, REIST C. Rapid determination of venlafaxine and Odesmethylvenlafaxine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Chromatogr. B.* 1997;703(1-2):195–201.

• Volume com suplemento

GERAUD G, SPIERINGS EL, KEYWOOD C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42 Suppl 2:S93-9.

• Número com suplemento

GLAUSER TA. Integrating clinical trial data into clinical practice. *Neurology.* 2002;58(12 Suppl 7):S6-12.

• Número sem volume

BANIT DM, KAUFER H, HARTFORD JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop.* 2002;(401):230-8.

• Sem volume ou número

Outreach: bringing HIV-positive individuals into care. *HRSA Careaction.* 2002:1-6

• Artigo em uma língua diferente do português, inglês e espanhol

HIRAYAMA T, KOBAYASHI T, FUJITA T, FUJINO O. [A case of severe mental retardation with blepharophimosis, ptosis, microphthalmia, microcephalus, hypogonadism and short stature-the difference from Ohdo blepharophimosis syndrome]. *No To Hattatsu.* 2004;36(3):253-7. Japanese.

• Artigo sem dados do autor

21st century heart solution may have a sting in the tail. *BMJ.* 2002;325(7357):184.

• Artigo em periódico eletrônico

SANTANA RF, SANTOS I. Transcender com a natureza: a espiritualidade para os idosos. *Rev. Eletr. Enf.* [Internet]. 2005 [cited 2006 jan 12];7(2):148-58. Available from: http://www.fen.ufg.br/revista/revista7_2/original_02.htm.