

Exposição Ambiental/Ocupacional aos Agrotóxicos em Gestantes Residentes em um Município Rural

Environmental/Occupational Exposure to Pesticides of Pregnant Women Living in a Countryside Municipality

Exposición Ambiental/Ocupacional a los Agrotóxicos en Gestantes Residentes en un Municipio Rural

Maria Isabel Gonçalves da Silva¹; Anna Maria Siebel²; Maria Assunta Busato³; Clodoaldo Antônio De Sá⁴; Vanessa da Silva Corralo^{5*}

Como citar este artigo:

Silva MIG, Siebel AM, Busato MA, *et al.* Exposição Ambiental/Ocupacional aos Agrotóxicos em Gestantes Residentes em um Município Rural. Rev Fund Care Online. 2019. out./dez.; 11(5):1319-1325. DOI: <http://dx.doi.org/10.9789/2175-5361.2019.v11i5.1319-1325>

ABSTRACT

Objective: The study's goal has been to analyze if environmental or occupational exposure to pesticides can produce changes in pregnant women living in a countryside municipality. **Methods:** The participants of this study were twenty-three pregnant women, who both answered a questionnaire and donated biological material in order to perform Micronucleus (MN) Tests in lymphocytes, oral epithelial cells, and also for measuring the enzyme activity of erythrocyte acetylcholinesterase. **Results:** Considering the total analyzed samples, the following was found: an average of 8 ± 2.92 MN/1000 oral epithelial cells from urban participants; an average of 6.82 ± 3.43 MN/1000 oral epithelial cells from rural participants; and 100% of the microscope slides contained cells with two MN, which shows high intensity lesions to the DNA. There was found a high frequency of spontaneous abortions (34.8%), greater than in Brazil. **Conclusion:** The exposure of pregnant women living in a countryside municipality to pesticides may increase the rate of spontaneous abortions, as well as the chances of mutagenic effects.

Descriptors: Abortion, Acetylcholinesterase, Agrochemicals, Occupational Exposure, Mutagenicity Tests.

¹ Curso de Graduação em Farmácia pela Universidade Federal de Santa Catarina. Especialização em Toxicologia Aplicada pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó. Mestra e Doutoranda em Ciências da Saúde pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó. Universidade Comunitária da Região de Chapecó.

² Curso de Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Feevale. Mestra e Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Coordenadora e professora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais, da Universidade Comunitária da Região de Chapecó. Universidade Comunitária da Região de Chapecó.

³ Curso de Graduação em Biologia pela Universidade de Passo Fundo. Especialização em Biologia Geral pela Fundação Educacional Severino Sombra. Mestra em Enfermidades Tropicais pela Universidade de Valência. Doutora em Biologia pela Universidade de Barcelona. Professora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde, da Universidade Comunitária da Região de Chapecó. Universidade Comunitária da Região de Chapecó.

⁴ Curso de Graduação em Educação Física pela Universidade Federal de Santa Maria. Mestre e Doutor em Ciência do Movimento Humano pela Universidade Federal de Santa Maria. Coordenador e professor do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde, da Universidade Comunitária da Região de Chapecó. Universidade Comunitária da Região de Chapecó.

⁵ Curso de Graduação em Farmácia pela Universidade de Cruz Alta. Mestra e Doutora em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria. Professora do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde, da Universidade Comunitária da Região de Chapecó. Universidade Comunitária da Região de Chapecó.

RESUMO

Objetivo: Analisar se a exposição ambiental ou ocupacional aos agrotóxicos causa alterações em gestantes residentes em um município rural. **Métodos:** Compuseram a amostra 23 gestantes, que responderam a um questionário e doaram amostras biológicas para a realização dos testes de micronúcleos (MN) em linfócitos, em células do epitélio oral, e para a dosagem da atividade da enzima acetilcolinesterase eritrocitária. **Resultados:** Obteve-se uma média de $8 \pm 2,92$ MN/1000 células do epitélio oral analisadas em amostras de participantes da zona urbana, $6,82 \pm 3,43$ MN/1000 de participantes da zona rural, e 100% das lâminas continham células com dois MN, o que demonstra lesões ao DNA de maior intensidade. Encontrou-se uma frequência elevada de casos de abortos espontâneos (34,8%), superior à encontrada no Brasil. **Conclusão:** A exposição de gestantes residentes em um município rural aos agrotóxicos eleva a taxa de abortos espontâneos, bem como as chances de ocorrência de efeitos mutagênicos.

Descritores: Aborto, Acetilcolinesterase, Agroquímicos, Exposição Ocupacional, Testes De Mutagenicidade.

RESUMEN

Objetivo: Analizar si la exposición ambiental o ocupacional a los agrotóxicos causa cambios en gestantes residentes en un municipio rural. **Métodos:** Compusieron la muestra 23 gestantes, que respondieron a un cuestionario y donaron muestras biológicas para la realización de las pruebas de micronúcleos (MN) en linfocitos, en células del epitelio oral, y para la dosificación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa eritrocitaria. **Resultados:** Se obtuvieron una media de $8 \pm 2,92$ MN / 1000 células del epitelio oral analizadas en muestras de participantes de la zona urbana, $6,82 \pm 3,43$ MN / 1000 de participantes de la zona rural, y el 100% de las láminas contenían células con dos MN, lo que demuestra lesiones al ADN de mayor intensidad. Se encontró una frecuencia elevada de casos de abortos espontáneos (34,8%), superior a la encontrada en Brasil. **Conclusión:** La exposición de gestantes residentes en un municipio rural a los agrotóxicos eleva la tasa de abortos espontáneos, así como las posibilidades de ocurrencia de efectos mutagênicos.

Descriptores: Aborto, Acetilcolinesterasa, Agroquímicos, Exposición Ocupacional, Pruebas De Mutagenicidad.

INTRODUÇÃO

A exposição por contaminantes ambientais como os agrotóxicos promove uma série de alterações bioquímicas no organismo humano, tais como variações nas atividades hormonais, nos parâmetros oxidativos, na inibição ou ativação enzimática, além de ocasionar danos ao DNA.¹ Neste sentido, estudos de biomonitoramento, realizados a partir da análise de parâmetros biológicos que possibilitem a detecção de alterações bioquímicas, desempenham um papel fundamental na avaliação da saúde de populações expostas a contaminantes ambientais.

Considerando a importância da atividade agrícola para a economia do Brasil e a crescente demanda pela produção de alimentos em todo o mundo, observa-se que o consumo de agrotóxicos também tem crescido, sobretudo no país.² Além dos efeitos danosos sobre o ambiente, os agrotóxicos representam um risco para os seres humanos expostos, visto que são compostos por moléculas biologicamente ativas, capazes de causar

danos genotóxicos e mutagênicos. Acometem em especial os trabalhadores da agricultura e habitantes da zona rural, bem como a população em geral que consome produtos alimentares contaminados por resíduos dessas substâncias.³

Entre as populações vulneráveis destacam-se as gestantes e os neonatos, visto que os agrotóxicos, considerados disruptores endócrinos, à medida que modulam a ação hormonal podem afetar o desenvolvimento dos tecidos e órgãos durante o período gestacional.⁴ A exposição a esses compostos pode iniciar precocemente, no útero materno, quando atravessam a placenta, ou na fase perinatal, fato que potencializa o risco de desenvolvimento de doenças em função da imaturidade dos sistemas fisiológicos.¹

Biomarcadores de efeito podem ser utilizados para verificar a ocorrência de alterações patológicas à saúde, decorrentes da exposição a compostos químicos. Entre as técnicas utilizadas para esse fim, o teste de micronúcleos, um ensaio realizado no campo da toxicologia genética, permite identificar o aumento na frequência de mutações celulares, expressando danos cromossômicos.⁵

Os micronúcleos surgem como núcleos secundários no citoplasma e consistem de pequenas quantidades de DNA oriundas da fragmentação de cromossomos, que não foram incluídos no núcleo celular principal da célula filha no momento da divisão celular.⁶ Outra técnica de biomonitoramento bastante utilizada é a análise da atividade da enzima acetilcolinesterase eritrocitária, um importante indicativo de exposição aos agrotóxicos da classe dos carbamatos e organofosforados.⁷

Embora alguns estudos tenham sido conduzidos, inclusive no Brasil, evidenciando os efeitos prejudiciais dos agrotóxicos sobre a reprodução humana e gestação⁸⁻⁹, no Sul do país, cuja comercialização atinge a ordem de 285 milhões de quilos de agrotóxicos², nenhum estudo avaliando biomarcadores de efeito em gestantes possivelmente expostas aos agrotóxicos foi localizado.

Considerando-se esse contexto, objetivou-se analisar se a exposição ambiental e/ou ocupacional aos agrotóxicos causa alterações em gestantes de um município rural.

MÉTODOS

Essa pesquisa caracteriza-se como um estudo analítico de corte transversal, de abordagem quantitativa.

Neste estudo foram avaliadas as gestantes residentes nas zonas rural e urbana de um município rural. Destaca-se, que segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), os municípios podem ser classificados como predominantemente rurais quando possuem população correspondente a 3.000 e 10.000 habitantes em área de ocupação, com índice de urbanização inferior a 75%.¹⁰

As gestantes realizaram o acompanhamento pré-natal na Unidade Básica de Saúde do município, no período

compreendido entre os meses de janeiro a abril de 2017. Foram incluídas na amostra 23 gestantes com idades entre 18 e 35 anos, que concordaram em participar do estudo. A média de idade foi de $25,50 \pm 4,06$ anos entre as gestantes da zona rural, e $25,64 \pm 7,99$ anos entre as gestantes da zona urbana, enquanto a média de peso (kg) foi de $60,55 \pm 7,76$ e $69,83 \pm 9,96$, respectivamente.

Enquanto aguardavam por suas consultas de pré-natal, as gestantes convidadas que aceitaram participar da pesquisa foram direcionadas, de forma individualizada, a um espaço adequado na Unidade Básica de Saúde, que dispunha de salas separadas tanto para a coleta das amostras biológicas, quanto para a realização das entrevistas. Primeiramente, para que os ensaios propostos neste estudo fossem realizados, procedeu-se a coleta das amostras biológicas. Em seguida, as gestantes entrevistadas responderam a um questionário, contendo informações sociodemográficas, referentes ao estilo de vida e ao contato com agrotóxicos.

Neste estudo foram realizados três ensaios envolvendo análise de biomarcadores de efeito: teste de micronúcleos (MN) em linfócitos de sangue periférico, em células do epitélio oral e dosagem da atividade da enzima acetilcolinesterase eritrocitária (AChE).

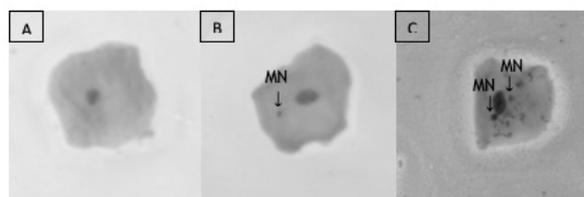
Para realização do teste de micronúcleos em linfócitos, foram coletados 4 mL de sangue venoso periférico, a partir de punção venosa em fossa antecubital, acondicionado em tubo heparinizado. Após, realizou-se a técnica do esfregaço com 5 μ l de sangue, em duplicata, deixando as lâminas histológicas secarem protegidas da luz, para posteriormente serem coradas pelo método estabelecido por Romanowski, utilizando o Kit Panótico Rápido LB.¹¹ Depois de secas, as lâminas foram levadas ao microscópio óptico *Olympus* para análise e contagem dos MN em linfócitos. As amostras foram analisadas em microscópio com 1000 x de ampliação. Para cada lâmina contendo a amostra, 100 células foram contabilizadas e classificadas de acordo com quantidade de MN presentes.¹²

Os MN podem ser reconhecidos de acordo com alguns critérios: não apresentam refringências, possuem formatos redondos ou ovais, um diâmetro de 1/16 até 1/3 se comparado ao diâmetro dos núcleos principais, não se ligam aos núcleos principais nem os sobrepõem, mas possuem a mesma intensidade de coloração do núcleo.¹³

Para realização do Teste de Micronúcleos em células do epitélio oral, a coleta da amostra foi efetuada mediante prévia assepsia bucal e com o auxílio de escova "cytobrush", imersa posteriormente em tubo de ensaio contendo 5 mL de solução fisiológica 0,9% para a dispersão do conteúdo celular em meio líquido. As amostras foram processadas de acordo com os protocolos descritos por Sarto et al. (1987)¹⁴, bem como fixadas conforme Stich e Rosin (1983).¹⁵ As amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 10 minutos, sendo posteriormente descartados os sobrenadantes. Em seguida, o processo de fixação foi realizado acrescentando

a cada tubo, 4 mL de fixador Carnoy e realizando nova centrifugação. O processo de fixação foi repetido e o sobrenadante removido. O material foi ressuspensionado em 2 mL de fixador Carnoy e para cada amostra, em duplicata, pingou-se 2 ou 3 gotas do material em uma lâmina de microscopia, deixando secar em temperatura ambiente. As lâminas foram coradas pelo método May Grünwald Giemsa (MGG), deixando-as secar para depois proceder à contagem das células e classificação de acordo com a análise no microscópio, seguindo os mesmos parâmetros utilizados para o teste de micronúcleos em linfócitos, conforme citado acima. Para cada lâmina contendo a amostra, 1000 células foram contabilizadas (Figura 1).

Figura 1 - (A) Célula epitelial da mucosa oral da amostra estudada sem a presença de micronúcleo. (B) Célula epitelial da mucosa oral com a presença de um micronúcleo (MN). (C) Célula epitelial da mucosa oral com a presença de dois micronúcleos.



Para a análise da atividade da enzima acetilcolinesterase eritrocitária (AChE), foi coletado de cada gestante 4 mL de sangue de veia periférica, acondicionados em tubo contendo EDTA, encaminhados para laboratório terceirizado, que utilizou para a análise o método potenciométrico. Os valores de referência considerados normais estão entre a faixa de 0,56 a 0,94 Δ pH/hora para mulheres.¹⁶

Em relação aos aspectos éticos salienta-se que todas as mulheres foram esclarecidas acerca dos objetivos e procedimentos do estudo, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido autorizando sua participação nesta pesquisa. Uma das vias ficou com a avaliada e a outra com o pesquisador. Os dados estão sobre a guarda dos pesquisadores responsáveis. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos, sob parecer n. 1 877 262.

Para análise de dados, utilizou-se a estatística descritiva, média e desvio padrão e a distribuição de frequências. O teste "t" de *Student* para amostras independentes foi utilizado para as comparações das concentrações de AChE entre os meios rural e urbano. Para a associação entre as variáveis foi utilizado o Teste de Qui-quadrado de Pearson ou Teste Exato de Fischer, dependendo da frequência observada nas categorias analisadas. Para todas as análises utilizou-se o pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 24.0 e o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram desta pesquisa 23 gestantes, residentes nas zonas rural e urbana, cujas características sociodemográficas são apresentadas na **Tabela 1**. Entre as avaliadas, 52,2% residiam na zona urbana, 60,9% autorreferiram a cor de pele como parda, 91,3% eram casadas, 52,2 % possuíam ensino médio e 13% eram agricultoras.

Tabela 1 – Características sociodemográficas de gestantes residentes em um município rural, de acordo com a zona de residência, no período de janeiro a abril de 2017

Parâmetros	Zona Rural N (%)	Zona Urbana N (%)
Cor de pele		
Branca	6 (26,1)	3 (13,0)
Parda	6 (26,1)	8 (34,8)
Estado civil		
Casada	11 (47,8)	10 (43,5)
Solteira	0 (0,0)	2 (8,7)
Grau de escolaridade		
Primário	0 (0,0)	1 (4,3)
Ensino fundamental completo	3 (13,0)	2 (8,7)
Ensino médio	6 (26,1)	6 (26,1)
Ensino superior	2 (8,7)	3 (13,0)
Profissão		
Do lar	6 (26,1)	7 (30,4)
Agricultora	3 (13,0)	0 (0,0)
Outras (expostas a compostos químicos)	1 (4,4)	3 (13,4)
Outras (não expostas a compostos químicos)	1 (4,4)	2 (8,7)

Fonte: Do autor.

Em relação aos hábitos alimentares, todas as gestantes relataram incluir na dieta diariamente frutas e verduras e, 91,3% não consumiam bebidas alcoólicas. O hábito do tabagismo foi citado por apenas uma gestante (4,4%), enquanto 26,1% eram fumantes passivas. As gestantes utilizavam medicamentos como polivitamínicos, ácido fólico, sulfato ferroso, e 13% realizavam tratamentos com outros fármacos, como antidepressivos, antibióticos e analgésicos.

Embora 47,8% das participantes deste estudo fossem habitantes da zona rural no momento da realização da pesquisa, constatou-se que 78,3% residiram na zona rural anteriormente, sendo que 39,1% trabalharam na lavoura. Observou-se que 39,4% das gestantes possuíam cônjuges agricultores, e elas eram responsáveis pela higienização das roupas utilizadas por eles durante o trabalho agrícola. Além disso, 30,4% das entrevistadas afirmaram trabalhar em local próximo a lavouras, como culturas de milho, soja, feijão, fumo e plantações de eucalipto.

Ainda em relação aos dados sobre possíveis exposições aos agrotóxicos, verificou-se que 21,7% das entrevistadas confirmaram que eram aplicados agrotóxicos nas hortas ou pomares de suas residências. Relataram também que era realizado anualmente desinsetização em suas casas (52,2%). Apenas três gestantes (13%) conheciam os

agrotóxicos utilizados nas lavouras ou mesmo os utilizados em domicílio. Foram citados o inseticida tiametoxan (neonicotinoide, classe toxicológica III), o herbicida glifosato (glicina substituída, classe toxicológica IV) e o inseticida clorpirifós (organofosforado, classe toxicológica II).

Ao avaliar os dados relacionados aos desfechos negativos ao neonato, detectou-se um caso de malformação congênita (anencefalia) e um caso de prematuridade. O número de gestações anteriores e de abortos ocorridos também foi contabilizado, conforme demonstra a Tabela 2.

Tabela 2 - Número de gestações anteriores e frequência de abortos ocorridos em gestantes residentes em um município rural, de acordo com a zona de residência, no período de janeiro a abril de 2017

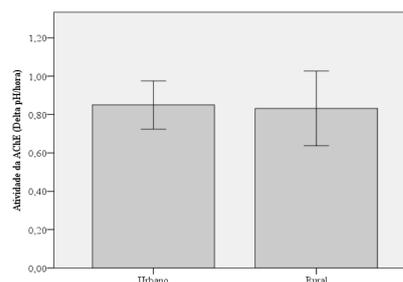
Parâmetros	Zona rural N (%)	Zona urbana N (%)
Número de gestações anteriores		
Nenhum	7 (30,4)	5 (21,7)
1	2 (8,7)	2 (8,7)
2	3 (13,0)	3 (13,0)
3	0 (0,0)	1 (4,4)
Número de abortos		
Nenhum	8 (34,8)	10 (43,5)
1	1 (4,4)	2 (8,7)
2	1 (4,4)	0 (0,0)
3	1 (4,4)	0 (0,0)

Fonte: Do autor.

As gestantes foram também questionadas sobre a existência de histórico familiar de defeito congênito ou doença hereditária. Entre as entrevistadas, 34,8% afirmaram possuir familiares com doenças congênitas a exemplo da Síndrome de Down, Síndrome de Turner, surdez e malformações em membro superior como a sindactilia (sendo 21,7% residentes na zona rural e 13,0% na zona urbana).

Em relação à análise da atividade da enzima acetilcolinesterase eritrocitária, os resultados indicaram que não houve alteração na atividade da enzima, conforme demonstrado na **Figura 2**.

Figura 2 - Dosagem da atividade da enzima acetilcolinesterase eritrocitária em gestantes residentes em um município rural, de acordo com a zona de residência, no período de janeiro a abril de 2017



*Resultados expressos como média ± DP.

Em relação ao teste de micronúcleos em sangue periférico ou em células esfoliativas do epitélio oral, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre gestantes residentes na zona rural e urbana ($p > 0,05$) (Tabela 3). Todas as amostras de células do epitélio oral apresentaram micronúcleos e 78,4% das gestantes continham amostras de células epiteliais com dois MN cada.

Tabela 3 - Comparações das médias de micronúcleos em linfócitos e células do epitélio oral de gestantes residentes em um município rural, no período de janeiro a abril de 2017

a Média de MN/100 linfócitos contabilizados. b Média de MN/1000 células epiteliais contabilizadas.

Parâmetro	Zona Urbana			Zona Rural			P
	N	Média	DP	N	Média	DP	
Linfócitos ^a	11	0,05	0,15	10	0,10	0,21	0,500
Epitélio Oral ^b	12	8,00	2,92	11	6,82	3,43	0,387

Fonte: Do autor.

Um dado importante evidenciado neste estudo foi o número elevado de casos de aborto na amostra, o que representou 34,8%. Esse percentual é superior ao encontrado para o Brasil (25%) e entre os fatores associados à etiologia dos abortos, está a exposição por xenobióticos, como por exemplo, os agrotóxicos.¹⁷ Dos oito casos de aborto detectados, destaca-se que seis ocorreram entre as gestantes residentes na zona rural e dois na zona urbana.

Os agrotóxicos podem ter influência sobre os sistemas reprodutores devido a sua atuação como disruptores endócrinos. A exposição crônica relaciona-se a disfunções reprodutivas como a diminuição da fertilidade em ambos os sexos, além de aumentar em até três vezes o risco de ocorrência de abortos.^{9, 18}

A análise dos dados demonstrou que entre as gestantes residentes no meio rural, apenas 13% relataram trabalhar com atividades agrícolas e, destas, nenhuma esteve sob condições de exposição ocupacional direta aos agrotóxicos durante o período gestacional, por estarem afastadas das atividades laborais e não manipularem tais produtos.

Embora não tenham sido relatados casos de intoxicações agudas, não se pode descartar a contaminação de forma crônica, visto que existem outras fontes de contato com essas substâncias, mesmo que em menor proporção, por tempo prolongado. Observou-se que 39% das entrevistadas já haviam trabalhado como agricultoras anteriormente, e aproximadamente 30% trabalhavam atualmente em locais próximos às lavouras, o que poderia expô-las aos agrotóxicos dispersos no ambiente por meio da inalação. Além disso, 39,4% das gestantes relataram lavar as roupas que seus cônjuges utilizavam nas atividades agrícolas,

possibilitando assim uma exposição por via dérmica.

Todas as mulheres confirmaram ingerir frutas e verduras diariamente durante a gestação, o que poderia ocasionar exposições por absorção de resíduos dessas substâncias, considerando também que parte das gestantes consumiam o que cultivavam em pomares e hortas de suas residências, nas quais utilizavam-se agrotóxicos (21,7%). Considera-se que essa prática é uma possibilidade de contaminação, sendo que os agrotóxicos também oferecem riscos à saúde da população, por meio da absorção de resíduos destes compostos presentes em alimentos.¹⁹⁻²⁰

Outro fator a ser considerado é a exposição de gestantes à água de consumo contaminada com resíduos de agrotóxicos, visto que a poluição das águas de mananciais superficiais, poços rasos e profundos, por resíduos de agrotóxicos no país é elevada.²¹ Entretanto, poucos são os sistemas de abastecimentos (24%) que fornecem dados sobre o controle de qualidade da água para os parâmetros agrotóxicos ao Ministério da Saúde.²²

Destaca-se ainda que 34,8% das gestantes referiram possuir familiares com doenças congênitas. Embora a causa dessas doenças seja desconhecida, não se pode negligenciar os fatores ambientais como a exposição materna a teratogênicos, como os agrotóxicos, principalmente quando o contato ocorre nos primeiros meses da gestação. Constituem fatores de risco importantes para o surgimento dessas anomalias o fato de residir próximo às lavouras nas quais se aplicam agrotóxicos, ter habitação até 1 km de distância de lavouras e armazenar os agrotóxicos em casa.²³

Em relação à avaliação da atividade da enzima AChE, os valores encontrados, tanto na zona rural quanto na urbana, encontravam-se dentro dos limites da normalidade e foram semelhantes entre esses dois ambientes. Sabe-se que a enzima AChE sofre alterações em sua atividade mediante exposição aguda a agrotóxicos da classe dos carbamatos e organofosforados, devido a capacidade que estes compostos possuem em inibi-la, impedindo que ocorra a hidrólise da acetilcolina (ACh), ocasionando um acúmulo desta substância na fenda sináptica e, conseqüentemente sinais de hiperestimulação colinérgica.⁷

Portanto, o nível da enzima colinesterase no sangue torna-se um importante biomarcador para a prevenção ou diagnóstico de intoxicações por agrotóxicos. Quanto menor for o valor referente à atividade enzimática, maior é o grau de intoxicação.²⁴

Cabe salientar que caso as gestantes estivessem expostas a compostos de classes diferentes, como por exemplo o glifosato, um dos herbicidas mais utilizados na região, não haveria interferência nos resultados. Considera-se que o cuidado das gestantes em não se exporem aos agrotóxicos pode explicar os resultados encontrados. Além do mais, a diminuição da atividade da AChE pode permanecer por até 120 dias após o último contato com os agrotóxicos²⁵, e deve-se considerar que constituíram a amostra, gestantes em diversas idades gestacionais, inclusive com mais de três

meses de gestação, e que neste caso, ao não se exporem aos pesticidas desde o início do período gestacional, não teriam reduções detectáveis na atividade da enzima.

Além dos efeitos sobre a reprodução humana e gestação, destaca-se os agrotóxicos como agentes potencialmente genotóxicos e mutagênicos. Alguns trabalhos correlacionam o uso de agrotóxicos com este tipo de dano, mensurado por técnicas como o teste de micronúcleos e o ensaio cometa.²⁶⁻²⁷ É importante conhecer a ação desses agentes e verificar possíveis alterações ao material genético, tanto na avaliação dos impactos ambientais, como na influência do estilo de vida da população sobre a estabilidade genômica.⁵

Nesta pesquisa, utilizou-se o teste de micronúcleos em linfócitos e em células do epitélio oral de gestantes, como parâmetros de mutagenicidade. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ao associar as zonas de residência com a frequência de micronúcleos nos dois testes.

Como alternativa menos invasiva ao teste de micronúcleos em linfócitos, o teste realizado com células do epitélio oral também se destaca como análise de danos ao material genético, sendo capaz de detectar a mutagênese cromossômica, constituindo um biomarcador precoce de doenças com bases genéticas.²⁸ A manutenção do crescimento, desenvolvimento e envelhecimento saudável das células, depende da estabilidade genômica, bem como do perfil de expressão gênica de células tronco basais, sendo fundamental nos processos de regeneração dos tecidos e órgãos do corpo.²⁹

Quando uma substância genotóxica alcança a camada basal da mucosa oral, que possui células em atividade mitótica, podem ocorrer danos citogenéticos que originam os micronúcleos durante o processo de divisão celular. Quando essas células lesionadas avançam para a superfície do epitélio, podem ser coletadas e observadas a partir de ensaios adequados.³⁰

Outro dado relevante encontrado neste estudo foi a frequência de células micronucleadas do epitélio oral, com média de $8 \pm 2,92$ MN/1000 células analisadas em amostras de participantes da zona urbana, e $6,82 \pm 3,43$ MN/1000 em amostras de participantes da zona rural. Cabe ressaltar que todas as lâminas continham células com dois MN, o que demonstra a possibilidade de lesões ao DNA de maior intensidade na amostra estudada. Frequências semelhantes de células micronucleadas foram encontradas em pesquisas realizadas com populações expostas aos agrotóxicos no país.³¹⁻³²

Observa-se que a frequência de micronúcleos detectada a partir do teste realizado com células do epitélio oral foi mais elevada do que a encontrada ao contabilizar linfócitos. Tal situação pode ser explicada pelo fato de que a mucosa oral, assim como a pele de um modo geral, constitui uma das primeiras barreiras de contato do agente genotóxico com o organismo.³³

Algumas variáveis podem influenciar nas médias de MN encontradas em pesquisas, como idade, perfil genético populacional e intensidade de exposição a agentes químicos, não havendo na literatura uma medida basal que estabeleça um padrão de referência ou normalidade.³⁴

Alterações na quantidade de micronúcleos podem relacionar-se aos efeitos dos mecanismos de reparo do DNA, a um nível de estresse oxidativo elevado, e em consequência de uma maior genotoxicidade ocasionada por exposição a xenobióticos. Desta forma, o teste de MN é muito utilizado no biomonitoramento de efeitos mutagênicos causados por poluentes ambientais.³⁵

Neste contexto, diferenças entre os resultados obtidos a partir de técnicas de biomonitoramento em populações expostas aos agrotóxicos, podem refletir condições de exposição distintas, e deve-se considerar a intensidade da exposição, o potencial genotóxico do composto, assim como o potencial para sua absorção, fatores endógenos, e fatores ambientais.³¹

Considerando o local de estudo, pode-se observar que as diferenças entre residir na zona rural e urbana de municípios rurais são tênues. Como a extensão territorial é pequena e a distância entre os meios é curta, muitas pessoas deslocam-se para trabalhar na zona rural, porém residem na zona urbana, e vice-versa, tornando difícil esta divisão da população entre as zonas de residência com o intuito de saber em qual meio as gestantes estariam mais vulneráveis à exposição por agrotóxicos. Em pequenos municípios rurais, percebe-se a partir do perfil amostral, que não existiram distinções relevantes quanto à intensidade de exposição aos agrotóxicos, sendo que todas as gestantes estiveram expostas a estes compostos de forma crônica.

Considera-se que em municípios com um número de habitantes inferior a 25.000, a população tem uma relação próxima entre ambiente urbano e rural e, portanto, os resultados encontrados neste estudo podem ser extrapolados para o restante do país, visto que 75% dos municípios brasileiros se enquadram nesta condição.³⁶

CONCLUSÕES

A exposição ambiental e/ou ocupacional aos agrotóxicos de gestantes residentes nas zonas rural e urbana indica uma elevada taxa de abortos espontâneos, assim como uma média considerável de micronúcleos obtida a partir do teste realizado com células do epitélio oral.

Estes resultados demonstram a necessidade de efetuar novas avaliações, que objetivem investigar os possíveis fatores etiológicos para estes desfechos adversos, de maneira mais aprofundada, com o intuito de minimizar os riscos a esta população.

REFERÊNCIAS

1. Castro-Correia C, Fontoura M. A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metabol.* 2015; 10 (2): 186-192.
2. Ministério da Saúde (BR). Relatório Nacional Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.
3. Cassal VB, Azevedo LF, Ferreira RP, Silva DG, Simão RS. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. *Rev. Elet. Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, REGET.* 2014; 18 (1): 437-445.
4. Cremonese C, Freire C, Meyer A, Koifman A. Exposição a agrotóxicos e eventos adversos na gravidez no Sul do Brasil, 1996-2000. *Cad Saúde Pública.* 2012; 28 (7): 1263-1272.
5. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res.* 2000; 455 (1): 81-95.
6. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res.* 2003; 543 (3): 251-272.
7. Oliveira GH, Ehrhardt A. Determinação da atividade de colinesterase plasmática e eritrocitária após exposição aguda a organofosforados e carbamatos em agricultores do município de Chapada, RS. *Rev Bras Anal Clin.* (Rio de Janeiro). 2015; 47 (4): 159-164.
8. Miranda-Contreras L, Gómez-Pérez R, Rojas G, Cruz I, Berrueta L, Salmen S, Colmenares M et al. Occupational Exposure to Organophosphate and Carbamate Pesticides Affects Sperm Chromatin Integrity and Reproductive Hormone Levels among Venezuelan Farm Workers. *J Occup Health.* 2013; 55 (3): 195-203.
9. Castro HFB, Vieira LFS, Carvalho MTA, Barreto NAP, Maia FA. Influência dos agrotóxicos na qualidade seminal: uma revisão de literatura. *Unimontes Científica.* 2014; 16 (1): 72-78.
10. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Classificação e caracterização dos espaços rurais e urbanos do Brasil : uma primeira aproximação / IBGE, Coordenação de Geografia. Rio de Janeiro: IBGE; 2017. [acesso em 2017 dez 06]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv100643.pdf>
11. Silva PH, Alves HB, Comar SR, Henneberg R, Merlin JC, Stingham ST. *Hematologia Laboratorial: Teoria e Procedimentos.* Edição digital. Porto Alegre: Artmed; 2015.
12. Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res.* 1975; 31 (1): 9-15.
13. Salvadori DMF, Ribeiro LR, Fenech M. Teste do micrônúcleo em células humanas in vitro. In: Ribeiro LR, Salvadori DMF, Marques EK. *Mutagênese Ambiental.* Edição Digital. Canoas: ULBRA; 2003.
14. Sarto F, Finotto S, Giacomelli L, Mazzotti D, Tomanin R, Levis AG. The Micronucleus Assay in Exfoliated Cells of the Human Buccal Mucosa. *Mutagenesis.* 1987; 2 (1): 11-17.
15. Stich HF, Rosin MP. Quantitating the Synergistic Effect of Smoking and Alcohol Consumption with the Micronucleus Test on Human Buccal Mucosa Cells. *Int J Cancer.* 1983; 31 (3): 305-308.
16. Holas O, Musilek K, Pohanka M, Kuca K. The progress in the cholinesterase quantification methods. *Expert Opin Drug Discov.* 2012; 7 (12): 207-23.
17. Drezett J. Mortalidade materna no Brasil. Insucesso no cumprimento do quinto Objetivo de Desenvolvimento do Milênio. *Reprod Clim.* 2013; 28 (3): 89-91.
18. Gómez LMT, Linares SB, Serrano RMG, Álvarez JV. Proyecto Saelci, Guanajuato. Exposición a plaguicidas y abortos espontáneos en un hospital materno infantil. *Verano de la Investigación Científica*, v. 2, n. 1, p. 1531-1535, 2016.
19. Selmi GFR, Trapé GZ. Proteção da saúde de trabalhadores rurais: a necessidade de padronização das metodologias de quantificação da exposição dérmica a agrotóxicos. *Cad Saúde Pública.* 2014; 30 (5): 952-960.
20. Ismael LL, Rocha EMR, Filho LAL, Lima RPA. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: preocupação ambiental e de saúde para população paraibana. *Revista Verde.* 2015; 10 (3): 24 - 29.
21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Atlas de Saneamento 2011. [acesso em 2017 jul 05]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/atlas_saneamento/default_zip.shtm.
22. Neto MLF. Norma brasileira de potabilidade da água: análise dos parâmetros agrotóxicos numa abordagem de avaliação de risco [tese]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz; 2010.
23. Rigotto RM, Silva AMC, Ferreira MJM, Rosa IF, Aguiar ACP. Tendências de agravos crônicos à saúde associados a agrotóxicos em região de fruticultura no Ceará, Brasil. *Rev Bras Epidemiol.* 2013;16 (3): 763-737.
24. Oliveira G H, Ehrhardt A. Determinação da atividade de colinesterase plasmática e eritrocitária após exposição aguda a organofosforados e carbamatos em agricultores do município de Chapada, RS. *Rev bras anal clin.* 2015, 47 (4): 159-164.
25. Alonzo HGA, Corrêa CL. Praguicidas. In: OGA, Seizi. *Fundamentos de Toxicologia.* 4. ed. São Paulo: Atheneu; 2014.
26. Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D. Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay, and comet assay. *J Appl Toxicol.* 2002; 22 (4): 249-255.
27. Jovičić D, Pajić J, Radivojević L, Rakić B, Sarić- Krsmanović M. Micronucleus frequencies in peripheral blood lymphocytes in a Serbian human population exposed to pesticides. *Pestic. Phytomed.* 2015; 30 (1): 51-60.
28. Thomas P, Wu J, Dhillon V, Fenech M. Effect of dietary intervention on human micronucleus frequency in lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis.* 2011, 26 (1): 69-76.
29. Darzynkiewicz Z, Smolewski P, Holden E, Luther E, Henriksen M, François M et al. Laser scanning cytometry for automation of the micronucleus assay. *Mutagenesis.* 2011, 26 (1): 153-161.
30. Speit G, Schmid O, Fröler-Keller M, Lang I, Triebig G. Assessment of local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated buccal mucosa cells. *Mutat Res.* 2007, 627 (2): 129-135.
31. Khayat CB, Costa EO, Gonçalves MW, da Cruz e Cunha DM, da Cruz AS, de Araújo Melo CO, Bastos RP, da Cruz AD, de Melo e Silva D. Assessment of DNA damage in Brazilian workers occupationally exposed to pesticides: a study from Central Brazil. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2013; 20 (10): 7334-7340.
32. Rogrigues DD. Análise de mutagenicidade em sangue periférico de agentes de combate a endemias do município de Aparecida de Goiânia (GO) [dissertação]. Goiás: Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Genética. Pontifícia Universidade Católica de Goiás; 2015.
33. Meneguetti DUO, Silva F, Bosso R, Zan R, Ramos L. New method for detection of mutagenicity in oral mucosa the through of micronucleus test. *HOAJ Biology.* 2012,1 (8): 1-4.
34. Bonassi S, El-Zein R, Bolognesi C, Fenech M. Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis.* 2011; 26 (1): 93-100.
35. FENECH, M. Chromosomal biomarkers of genomic instability relevant to cancer. *Drug Discov Today.* 2002, 7 (22): 1128-1137.
36. Martins CR, de Albuquerque FJB, Gouveia CNNA, Rodrigues CFF, Neves MTS. Avaliação da qualidade de vida subjetiva dos idosos: uma comparação entre os residentes em cidades rurais e urbanas. *Estud. interdiscip. envelhec.* 2007; 11 (1): 135-54.

Recebido em: 29/05/2018

Revisões requeridas: 13/12/2018

Aprovado em: 15/02/2019

Publicado em: 05/10/2019

***Autor Correspondente:**

Vanessa da Silva Corralo

Servidão Anjo da Guarda, 295-D

Efapi, Santa Catarina, SC, Brasil

E-mail: vcorralo@unochapeco.edu.br

Telefone: +55 49 3321-8215

CEP: 89809-900