

## EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS E CÂNCER AMBIENTAL

*Sergio Koifman*  
*Ana Hatagima*

### INTRODUÇÃO

O câncer agrega um conjunto de doenças que resultam de uma série de alterações no DNA em uma única célula ou clone desta célula levando à perda da função normal, crescimento aberrante ou descontrolado e, em muitos casos, a metástases. Vários genes, freqüentemente mutados ou perdidos, têm sido identificados e entre eles estão alguns proto-oncogenes e genes supressores de tumor, cujas funções incluem a indução da proliferação celular em situações específicas e a interrupção da proliferação em células danificadas, respectivamente. Além destas, outras mutações também podem ocorrer em genes envolvidos no reparo de DNA, no controle do ciclo celular, na angiogênese e na produção da telomerase (Brennan, 2002). O padrão de perdas ou mutações é complexo, mas na maioria dos tumores esse evento ocorre em, pelo menos, um proto-oncogene e em um ou mais genes supressores de tumor na célula em questão, resultando em uma proliferação celular descontrolada (Vogelstein & Kinzler, 1998).

Os carcinógenos químicos são compostos eletrofílicos que atacam o núcleo de carga negativa do DNA, podendo causar mutações que, por sua vez, aparentemente iniciam uma cadeia de eventos que leva ao câncer. Para que uma célula cancerosa se produza, é necessária uma longa série de eventos capazes de agredir continuamente o DNA celular. Assim, acredita-se que uma célula de câncer de cólon se formaria a partir de pelo menos

oito diferentes mutações em uma única célula, enquanto na leucemia cerca de sete mutações distintas seriam necessárias (Alberts et al., 2000). O processo da carcinogênese era descrito, até pouco tempo, como uma progressão ordenada da célula em três estágios específicos: a *iniciação tumoral*, que embora irreversível, pode permanecer isolado e dormente por longo tempo, sem que o câncer como processo expansivo se estabeleça. Se esta célula cancerosa recebe, também de forma contínua, estímulos químicos (como a exposição ao benzopireno originado da combustão do fumo) ou físicos (radiação ionizante) para a multiplicação, uma segunda etapa do processo da carcinogênese, a *promoção tumoral*, se inicia. Esta, embora reversível se interrompido o estímulo ambiental, adquire, entretanto, um caráter de irreversibilidade na vigência da continuidade temporal das exposições ambientais fomentadoras deste processo. Assim, ocorre uma evolução para a fase de *progressão tumoral*, quando múltiplas células cancerosas, clones da primeira célula cancerosa formada na fase de iniciação, passam a invadir os tecidos adjacentes e, posteriormente, constituem tecidos neoformados similares em áreas distantes, mediante a penetração nos vasos sanguíneos possibilitando a formação de metástases (Franks & Teich, 1987).

Este modelo simplificado tem sido alterado pelas novas descobertas de que o câncer resulta de uma sucessão de eventos genéticos e epigenéticos, cuja ordem pode variar (Weinstein, Santella & Perera, 1995; Perera, 1996). O modelo atualizado pressupõe que o câncer resulta do acúmulo de alterações na estrutura ou expressão de certos genes vitais por mecanismos variados, a saber, mutação pontual induzida pelos aductos de DNA-carcinógeno, amplificação gênica, translocação, perda cromossômica, recombinação somática, conversão gênica ou metilação do DNA (Venitt, 1994; Perera, 1996). No centro deste modelo estariam os oncogenes e os genes supressores de tumor que codificam proteínas importantes para a regulação e controle do ciclo celular (Bishop, 1991). Mutações nestes genes podem resultar na ausência da proteína, produtos protéicos alterados ou quantidades anormais da proteína normal desregulando o crescimento e a diferenciação celular. Além disso, o processo da carcinogênese também pode ser influenciado por muitos outros fatores de suscetibilidade, como os genes de alto e baixo risco, etnia, idade, sexo, condições de saúde e nutrição, entre outros (Perera, 1996).

Desta forma, pode-se dizer que o câncer é causado por fatores externos e internos, estando ambos inter-relacionados. Os fatores externos se refe-

rem às exposições ambientais enquanto os internos são, na maioria das vezes, geneticamente determinados e estão relacionados à capacidade individual de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais.

A reprodução das observações referentes a este modelo vem sendo documentada de forma tão marcante no desenvolvimento do câncer em diversos tecidos, que acabou por transformar o modelo descrito num paradigma da carcinogênese, acarretando a necessidade, a luz do conhecimento científico atual, de abordá-lo na análise de qualquer agente cancerígeno potencial, como é o caso dos agrotóxicos.

Nesse sentido, a exposição a agentes químicos, dentre eles os agrotóxicos, é também uma das condições potencialmente associadas ao desenvolvimento do câncer, por sua possível atuação como iniciadores (substâncias capazes de alterar o DNA de uma célula, a qual poderá futuramente originar o tumor) e/ou promotores tumorais (substâncias que estimulam a célula alterada a se dividir).

## AGROTÓXICOS E CÂNCER

### Agrotóxicos

O termo agrotóxico é usado para denominar uma ampla variedade de produtos químicos utilizados para destruir ervas daninhas (herbicidas), insetos (inseticidas) e fungos (fungicidas). Esses produtos são amplamente usados na agricultura, horticultura, reflorestamento e no processamento secundário destes produtos nas indústrias (McDuffie et al., 2001).

Os organoclorados são um grupo de diversos produtos químicos sintéticos, muitos deles liberados no ambiente nas últimas décadas com a utilização de agrotóxicos ou produtos industriais. Estes agrotóxicos incluem, por exemplo, o *dichlorodiphenyl-trichloroethane* (DDT), muito usado nos Estados Unidos, de 1940 até 1960, para o controle de insetos no manejo de florestas, na agricultura e na proteção nas construções. O uso intenso de DDT nos EUA ocorreu no início de 1960, sendo banido em 1972. Os *biphenyls polychlorinated* (PCBs) também foram extensivamente usados nos

EUA como fluidos dielétricos em transformadores e capacitores elétricos, lubrificantes e na manufatura de produtos como tintas e papel até seu uso ser interrompido em 1977. Os PCBs representam uma ampla classe diversificada de vários produtos químicos organoclorados que inclui 209 grupos, sendo alguns mais comumente utilizados em produtos comerciais do que outros (Longnecker, Rogan & Lucier, 1997). As dioxinas também são organoclorados e são produzidas pela combustão de produtos em processos industriais ou como contaminantes de herbicidas. Outros organoclorados incluem agrotóxicos usados em quantidades menores como o *lindane* e *hexachlorobenzene* (Calle et al., 2002).

Embora o uso de DDT e PCBs tenha sido banido nos EUA desde 1970, alguns destes compostos organoclorados se acumularam e persistem no ambiente. Esses compostos são lipofílicos, degradam lentamente e bioacumulam na cadeia alimentar, podendo ser encontrados no tecido adiposo, sangue e leite humano. Os principais resíduos de organoclorados encontrados nos tecidos humanos são o *dichlorodiphenyl-dichloroethylene* (DDE) e os principais metabólitos de DDT e PCBs. Os níveis nos tecidos humanos estão positivamente associados com a idade (Kutz, Wood & Bottimore, 1991) como um resultado do acúmulo no ambiente e dos maiores níveis de exposição.

As formulações dos agrotóxicos são misturas complexas que incluem além do ingrediente(s) ativo(s), vários outros componentes como solventes, agentes umidificantes e emulsificantes e aditivos. Além disso, é comum na agricultura que diferentes formulações sejam simultaneamente utilizadas com combinações variadas dependendo da época e do tipo de cultura. Isto torna a exposição complexa, e o biomonitoramento de compostos específicos para a avaliação da exposição se torna muito difícil. Os possíveis efeitos tóxicos de tais exposições complexas ainda são desconhecidos e as informações da toxicidade relacionada apenas aos ingredientes ativos não são suficientes para avaliar o risco dos efeitos adversos dos agrotóxicos à saúde (Falek et al., 1999). Em relação à genotoxicidade, a determinação das alterações citogenéticas nos indivíduos expostos ocupacionalmente aos agrotóxicos pode ser utilizada como marcador de efeito biológico precoce fornecendo um quadro geral da exposição genotóxica no trabalho aos agrotóxicos (Scarpato et al., 1996).

## Exposição a agrotóxicos: aspectos biológicos

Alguns agrotóxicos como o DDT são considerados carcinógenos humanos em potencial além de promotores tumorais e são incluídos no grupo B1 (substâncias provavelmente carcinogênicas) da Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (Iarc). O DDT assim como as bifenilas policloradas (PCBs), as dioxinas, o hexaclorociclohexano (HCH) e o hexaclorobenzeno constituem um grupo diverso de substâncias químicas sintéticas denominadas agrotóxicos organoclorados (Calle et al., 2002). Tanto o DDT como seu metabólito DDE são lipossolúveis, persistindo no ambiente ao longo do tempo e acumulando-se no tecido adiposo em níveis mais elevados que aqueles encontrados no leite materno e no sangue, graças ao processo de bioacumulação (Jaga & Brosius, 1999; Snedeker, 2001), tendo sido associados ao desenvolvimento de câncer de fígado, no trato respiratório e linfonos, apresentando efeitos na mama correlatos àqueles decorrentes da exposição ao estrogênio.

Segundo Deane et al. (apud Wagley, 1953), o DDT foi empregado pela primeira vez no Brasil num teste piloto realizado na cidade de Breves, Pará, em 1946, pela Fundação Sesp para o combate da malária, sendo em seguida empregado em outras 146 comunidades na região Amazônica. No final dos anos 90, foi redigido um acordo pelas Nações Unidas, aprovado apenas em 2001, destinado ao banimento de doze substâncias ou grupo de substâncias químicas, incluindo agrotóxicos organoclorados, dioxinas e furanos, sendo o DDT incluído na mesma, embora com banimento parcial podendo ser empregado em campanhas de saúde pública.

O uso de agrotóxicos tem aumentado mundialmente nas últimas décadas, o que pode representar um risco para diversas doenças em seres humanos, incluindo o câncer. Tem havido, entretanto, um esforço acadêmico voltado para a compreensão dos mecanismos toxicológicos envolvidos na associação entre este tipo de exposição e o desenvolvimento de câncer, particularmente quanto à plausibilidade biológica desta associação (Acquavella et al., 2003). Diversas técnicas de pesquisa básica na detecção da genotoxicidade, como o teste do cometa ou o de micronúcleos, têm sido empregadas com o objetivo de avaliar alterações que precederiam o desenvolvimento do câncer (Grover et al., 2003; Ramirez & Cuenca, 2001). Recentemente adotaram-se também propostas para o controle da exposição a tais agentes químicos, como medidas voltadas para a prevenção de alguns

tumores potencialmente associados à exposição aos agrotóxicos, sobretudo os linfomas não-Hodgkin (McDuffie et al., 2002). Entre essas medidas, encontra-se o controle da contaminação de alimentos por substâncias orgânicas, tais como poluentes persistentes como os agrotóxicos, embora sua associação com o câncer não esteja plenamente estabelecida (Fattore, Faneli & La Vacchia 2002).

Em estudo para determinar a prevalência de micronúcleo em trabalhadores agrícolas expostos a agrotóxicos em Passo Fundo, RS, Pacheco Ade & Hackel (2002) observaram uma frequência duas vezes maior de micronúcleo em trabalhadores com exposição direta do que em populações-controle, 14,3 e 7,1/mil células, respectivamente. Em relação ao papel da dieta na veiculação da exposição humana a agrotóxicos, supõe-se que a ingestão de alimentos mesmo contendo baixas doses de resíduos de agrotóxicos possa causar injúria tecidual, freqüentemente associada ao câncer. Além disso, a bioconcentração de organoclorados persistentes na cadeia alimentar acarreta riscos adicionais para os indivíduos que comem carne, quando comparados aos vegetarianos (Richter & Chlamtac, 2002). A alimentação à base de frutas, legumes e verduras no Brasil também pode acarretar a ingestão de resíduos de agrotóxicos (Caldas & Souza, 2000; Araújo et al., 2000).

## **Desregulação hormonal e tumores hormônio dependentes**

Recentemente, atenção tem sido focalizada no potencial que alguns produtos químicos têm de atuar como ‘disruptores endócrinos’. Um disruptor endócrino é um produto químico que interfere na função do sistema endócrino mimetizando um hormônio (devido à semelhança de sua estrutura química com a dos hormônios naturais), podendo bloquear seus efeitos. Além disso, ele pode estimular ou inibir a produção ou o transporte de hormônios. Muitos compostos organoclorados, como DDE e alguns PCBs, são considerados disruptores endócrinos porque, em ensaios experimentais, têm função estrogênica ou anti-estrogênica fraca (Calle et al., 2002). Também têm sido carcinogênicos em modelos experimentais (Iarc, 1997, 1998).

A plausibilidade biológica da associação entre a exposição a agrotóxicos e alguns tipos de câncer, sobretudo aos de natureza hormônio-dependente (câncer de mama, testículo, ovário, próstata e tireóide), parece relacionada

aos mecanismos potenciais de desregulação endócrina verificados entre os disruptores endócrinos (Cocco, 2002), sendo relativamente pouco conhecido seu impacto na população brasileira (Meyer, Sarcinelli & Moreira, 1999). Recentemente, nos Estados Unidos, um estudo evidenciou a feminização das gônadas, mediante a presença de óocitos, em sapos machos expostos ao atrazine, um dos herbicidas mais amplamente comercializados em todo o mundo e capaz de contaminar os cursos d'água (Hayes et al., 2002). Também nos EUA, um estudo epidemiológico, realizado com trabalhadores de uma fábrica produtora de atrazine e outros herbicidas relacionados a triazine, mostrou um excesso estatisticamente não significativo de casos de câncer de próstata em trabalhadores em atividade (5 casos observados e 1,3 esperados, SIR 394, 95% IC 44-260) (MacLennan et al., 2002).

Além do câncer, parecem estar associadas à exposição aos chamados disruptores endócrinos outras alterações descritas em seres humanos e animais, como a modificação na razão entre sexos ao nascimento, infertilidade, mal-formações congênitas no trato genital masculino, sobretudo criptorquidia (retenção do testículo na cavidade abdominal e não migração para a bolsa escrotal durante o período pré-natal) e hipospádia (oclusão incompleta da parede peniana no período pré-natal), modificações na qualidade do sêmen (em termos de motilidade, concentração, contagem e presença de formas anômalas).

A interpretação sobre a observação de algumas destas variações internacionais permanece, contudo, em debate. Um exemplo consiste no aumento da incidência de câncer de testículo observado em diferentes países industrializados, não havendo consenso sobre as possíveis razões para tal. Nos países escandinavos, onde a distribuição da doença é heterogênea (a Dinamarca apresenta altas taxas de incidência, ao contrário da Finlândia com taxas reduzidas), alguns autores consideram improvável a hipótese explicativa baseada na exposição a agentes químicos (Safe, 2000). Este fato, entretanto, não excluiria a hipótese de uma etiologia endócrina de certas neoplasias, como o câncer de testículo, mama e outros tumores hormônio-dependentes associados à exposição a níveis elevados de agentes químicos.

Grande número de agrotóxicos apresenta atividade potencialmente capaz de desregular o equilíbrio endócrino de seres humanos e animais, como o DDT e os herbicidas fenóxi. Por isso, os trabalhadores agrícolas podem também apresentar riscos elevados de neoplasias hormônio-depen-

dentem, uma vez que os mesmos, se comparados à população em geral, apresentam níveis mais elevados de exposição a agrotóxicos, em intensidade e duração (Buranatrevedh & Roy, 2001).

No que concerne à relação entre exposição a agrotóxicos e localização tumoral, o câncer de mama tem se evidenciado, chamando a atenção dos pesquisadores do campo. Este fato decorre, sobretudo, da similitude entre a estrutura química do DDT com a molécula de estrogênio, tendo a exposição a este hormônio sido inicialmente caracterizada como um dos prováveis fatores de risco relevantes para o câncer de mama. Assim, acredita-se que seja possível a ocorrência de uma interação de DDT e outros agrotóxicos organoclorados com os receptores estrogênicos das células, atuando, então, como falsos hormônios apresentando potencial genotóxico e carcinogênico (Jaga, 2000). Um estudo de alterações mamográficas, realizado em uma coorte de mulheres vivendo em região com uso intensivo de agrotóxicos na Grécia, revelou riscos mais elevados, estatisticamente significativos, de alterações mamográficas precursoras de câncer em mulheres expostas ocupacionalmente a agrotóxicos, observando-se uma maior detecção de câncer de mama na pré-menopausa (Dolapsakis et al., 2001).

Os resultados de diversas investigações explorando esta associação revelam, contudo, que, na maioria dos estudos, não foi constatada associação entre exposição a agrotóxicos organoclorados e câncer de mama (Calle et al., 2002; Cocco, 2002; Lopez-Carrillo et al., 2002; Gammon, 2002; Laden et al., 2001; Ward et al., 2000). No Brasil um estudo caso-controle, realizado no Rio de Janeiro para avaliar a associação entre a exposição a organoclorados e câncer de mama, mostrou resultados na mesma direção, não se observando associação entre ambos e verificando-se níveis séricos de DDE similares em casos da doença e controles (Mendonça et al., 1999).

Alguns autores têm, entretanto, alertado para o fato de que a associação entre câncer de mama e exposição a agrotóxicos organoclorados é fortemente afetada por variáveis como renda, paridade, antecedentes de aleitamento materno, índice de massa corporal e origem étnica, sustentando a necessidade de caracterização de subgrupos populacionais segundo a distribuição das mesmas na análise daquela associação (Millikan et al., 2000; Romieu et al., 2000; Snedeker, 2001).

Entretanto, têm sido relatados resultados de associação entre a exposição a alguns agrotóxicos organoclorados (PCBs e DDE) e tumores de mama



receptores negativos de estrogênio apresentando pior prognóstico na evolução que os tumores receptores positivos (Hoyer et al., 2001; Woolcott et al., 2001). Esta observação é relevante considerando-se o debate sobre a natureza do câncer de mama em relação aos tumores receptores hormonais positivos e negativos como entidades nosológicas distintas. Pesquisas mais recentes têm buscado identificar subgrupos populacionais diferenciados quanto à suscetibilidade genética na metabolização de agrotóxicos (Charles et al., 2001). Assim, em estudo caso-controle aninhado numa coorte dinamarquesa, Hoyer et al. (2002) observaram estimativas de risco elevadas, embora sem significância estatística, entre os casos de câncer de mama com o gene p53 mutante nos estratos de maior exposição a dieldrin (OR 3,53, 95% IC 0,79 -15,79) e PCBs (OR 3,00, 95% IC 0,66-13,62), sugestivos do envolvimento destas mutações na associação entre a exposição a agrotóxicos organoclorados e câncer de mama.

### Outras localizações tumorais

Além dos cânceres de mama, outros tumores hematológicos, tumores do sistema nervoso, câncer na infância, pâncreas, câncer renal, tumores associados a um perfil hormonal (mama, endométrio, ovário, testículo, próstata e tireóide), têm sido investigados quanto à potencial associação de natureza causal decorrente do uso de agrotóxicos.

Os trabalhadores agrícolas constituem um dos grupos ocupacionais mais expostos aos agrotóxicos. É a pele o órgão que apresenta contato mais direto com estes agentes químicos durante a atividade de sua dispersão no ambiente. Os agricultores também entram em contato com os agrotóxicos durante a sua formulação nos equipamentos agrícolas, nas atividades de limpeza destes, no manuseio de sementes impregnadas de agrotóxicos e na colheita de plantações anteriormente tratadas. Assim, os tumores de pele, como o tumor de Bowen (carcinoma *in situ*), carcinoma basocelular múltiplo e carcinoma de células escamosas, constituem riscos para estes trabalhadores, sobretudo para aqueles expostos aos agrotóxicos arsenicais (Spiewak, 2001).

Entre os tumores com etiologia associada à exposição a agrotóxicos, encontram-se as neoplasias de pâncreas. Em estudo de exposição ocupacional a agrotóxicos organoclorados nos Estados Unidos, Slebois et al. (2000)

encontraram resultados sugestivos de uma maior frequência de mutações do gene K-ras em indivíduos com maiores níveis de exposição a DDE, um metabólito indicador da exposição progressa a DDT. Em outro estudo realizado nos EUA, Ji et al. (2001) relataram um excesso de risco de câncer de pâncreas de 50% em expostos a níveis moderados de fungicidas e de 60% a herbicidas. Na Espanha, Alguacil et al. (2000) observaram riscos até três vezes mais elevados deste tipo de câncer em trabalhadores expostos a outros agrotóxicos, como os arsenicais.

Os tumores hematológicos e, sobretudo, os linfomas não-Hodgkin têm sido uma das principais neoplasias descritas na literatura recente como associadas à exposição ocupacional e não-ocupacional prolongada a agrotóxicos em diversos países como a Itália (Constantini et al., 2001), Suécia (Thorn et al., 2000; Hardell, Eriksson & Nordstrom, 2002), Canadá (McDuffie et al., 2001), Alemanha (Meinet et al., 2000), Estados Unidos (Fleming et al., 2003; Ma et al., 2002), entre outros.

A análise conjunta da ocorrência destes tumores em trabalhadores agrícolas de quatro estados americanos revelou um aumento de 50% no risco de linfomas não-Hodgkin após exposição prolongada a agrotóxicos organofosforados, sendo observada uma OR de 2,8 em expostos a diazinon após o controle da exposição a outros agrotóxicos (Waddell et al., 2001). Em outro estudo com estes trabalhadores, observou-se um aumento de 30 a 50% no risco de linfomas não-Hodgkin em decorrência da exposição a carbamatos, sobretudo em trabalhadores que manusearam diretamente o produto por períodos de vinte anos ou mais (Zheng et al., 2001). No Canadá, estudo multicêntrico de base populacional realizado por McDuffie et al. (2001), constatou riscos de linfomas não-Hodgkin em trabalhadores do sexo masculino expostos a diversos agrotóxicos mesclados, como as misturas contendo aldrin (OR 3,42, 95% IC 1,49-3,29), dicamba (OR 1,96, 95% IC 1,40-2,75) ou mecocrop (OR 2,22, 95% IC 1,49-3,29).

A exposição a agrotóxicos durante a infância tem também revelado evidências de associação com diversos tumores, como os hematológicos (leucemia, linfoma não-Hodgkin e doença de Hodgkin), câncer de cérebro e tecidos moles, apresentando inclusive riscos mais elevados que aqueles observados em adultos, o que sugere maior suscetibilidade aos agrotóxicos na infância (Mills & Zahm, 2001). Ma et al. (2002) analisaram o papel etiológico potencial da exposição a agrotóxicos, em um estudo caso-controle de

leucemias em crianças americanas menores de 15 anos, e observaram uma razão de chances da ordem de 2,8 (95% IC 1,4-5,7) de leucemia na infância, sendo esta de 3,6 (95% IC 1,6-8,3) quando a exposição ocorreu até o segundo ano de vida. O estudo sugere que as exposições a agrotóxicos nos primeiros anos de vida acarretam riscos mais elevados que aquelas em idades mais avançadas.

Por outro lado, um estudo da incidência de câncer em filhos de trabalhadores de serrarias expostos a fungicidas com clorofenol na Colúmbia britânica, Canadá (Heacock et al., 2000), não revelou riscos mais elevados para leucemia, apenas um discreto aumento estatisticamente não significativo na incidência de tumores de cérebro (SIR 1,3, 95% IC 0,5-1,8). Em relação ao neuroblastoma, neoplasia mais incidente no primeiro ano de vida, Daniels et al. (2001) observaram um excesso de 60% no risco da doença em função da exposição residencial a agrotóxicos (OR 1,6, 95% CI 1,0-2,3), verificando riscos maiores em crianças após o primeiro ano de vida com exposição a agrotóxicos em jardins (OR 2,2, 95% IC 1,3-3,6).

O sistema gênito-urinário tem sido igualmente descrito como afetado pela exposição a agrotóxicos, sobretudo com o desenvolvimento de neoplasias de próstata e renal. A observação de um aumento na incidência de câncer de próstata foi constatada na Suécia em trabalhadores rurais expostos a herbicidas e fertilizantes (Sharma-Wagner et al., 2000). Suspeitou-se da sua associação em soldados americanos expostos ao desfolhante “agente laranja” empregado durante a guerra do Vietnã (Zafar & Terris, 2001).

Outras localizações tumorais descritas em áreas com uso intensivo de agrotóxicos, como a região de Gaza na Palestina, incluem câncer de pulmão, bexiga, cérebro, cólon e fígado – em homens –, e mama, pulmão, útero e tireóide – em mulheres –, observando-se correlações muito elevadas em ambos os sexos para os diferentes tipos de agrotóxicos (Safi, 2002).

## **AGROTÓXICOS E CÂNCER: aspectos moleculares**

Com exceção dos cânceres familiares raros, que são primariamente causados pela herança de uma mutação específica na linhagem germinativa, o câncer esporádico pode apresentar mutações derivadas de exposições genotóxicas endógenas e exógenas com a formação de aductos de DNA (elemento químico ligado às macromoléculas de DNA). A probabilidade de

ocorrência de mutações e a persistência dos clones subseqüentes podem ser influenciadas pela capacidade dos organismos de metabolizar e excretar substâncias potencialmente tóxicas e também pela sua eficiência no reparo dos erros ocorridos no DNA durante a sua replicação. Essa capacidade de proteção em relação à carcinogênese varia entre os indivíduos devido à heterogeneidade existente nos genes responsáveis por estes mecanismos.

Estudos epidemiológicos mostram que mais de 80% dos cânceres são atribuídos a fatores ambientais interagindo com características genéticas e adquiridas (Doll & Peto, 1981; Perera, 1996). Frequentemente, interações aditivas e sinérgicas ocorrem entre os vários fatores. Por este motivo, polimorfismos em genes envolvidos na ativação e desintoxicação de carcinógenos, metabolismo de hormônios, reparo do DNA, controle do ciclo celular, regulação e desenvolvimento do sistema imune, entre outros, têm atraído muito interesse. Eles têm sido considerados fortes candidatos a fatores de suscetibilidade para o câncer e outras doenças influenciadas pelo ambiente.

Entre estes podem ser mencionadas as mutações dominantes de alta e baixa penetrância. As de alta penetrância conferem um risco individual alto aos seus portadores, mas como, geralmente, são mutações raras respondem por uma pequena porcentagem de todos os casos de câncer. Como exemplo podem ser citadas as mutações do gene *RB* no retinoblastoma bilateral familiar. As mutações de baixa penetrância, entretanto, são características genéticas relativamente comuns, como aquelas que regulam o metabolismo e a desintoxicação de carcinógenos. Acarretam um risco individual baixo, mas no nível populacional podem ter um impacto grande devido à sua alta frequência na maioria das populações (Perera & Weinstein, 2000). Por exemplo, a variação interindividual nas enzimas desintoxicadoras, tais como a *GSTM1*, também pode contribuir para a suscetibilidade individual. Cerca de 50% da população caucasiana é homocigota para a deleção deste gene que tem sido associado a um maior risco para câncer de bexiga e pulmão (Seidegard et al., 1990; Bell et al., 1993; McWilliams et al., 1995).

## BIOTRANSFORMAÇÃO DE XENOBIÓTICOS

Xenobióticos são substâncias químicas (naturais ou artificiais) estranhas ao organismo, tais como as drogas, produtos industriais, agrotóxicos, poluentes, alcalóides, metabólitos de plantas e toxinas produzidas por fun-

gos, plantas e animais (Parkinson, 1996). Na sua forma natural ou biotransformados, os xenobióticos, podem afetar a integridade do DNA provocando o câncer se a exposição for persistente. O acúmulo de danos no DNA acrescido dos erros espontâneos na sua replicação, não corrigidos pelo sistema de reparo, pode causar mutações irreversíveis que, por sua vez, pode levar ao desenvolvimento de tumor e/ou a progressão de um câncer.

Estudos epidemiológicos mostram que 80-90% de todos os cânceres estão relacionados a fatores ambientais como tabagismo, exposições ocupacionais e alimentares (Doll & Peto, 1981). Assim, a capacidade dos indivíduos de biotransformar xenobióticos tóxicos em não tóxicos pode ser considerada a primeira linha de defesa no processo de eliminação de toxinas do organismo. As enzimas envolvidas nestas reações são as que, freqüentemente, determinam a intensidade e a duração da ação das drogas e outros xenobióticos, daí sua importância na toxicidade química e tumorigênica.

A biotransformação dos xenobióticos consiste na modificação das suas propriedades físicas que, geralmente, passa de lipofílico (de fácil absorção) para hidrofílico, facilitando sua excreção. Na sua ausência, muitos xenobióticos lipofílicos seriam excretados tão vagarosamente que poderiam ser eventualmente acumulados, destruindo e inviabilizando biologicamente o organismo (Parkinson, 1996). É possível ocorrer o mesmo quando a taxa de absorção excede a taxa de eliminação. Esse desequilíbrio pode comprometer a homeostasia do organismo, e o acúmulo de determinadas drogas, por exemplo, pode ter consequências tóxicas de caráter farmacológico, patológico ou genotóxico.

O metabolismo de xenobióticos é geneticamente determinado, envolvendo grandes famílias de enzimas, como as do citocromo P-450 (CYPs), da glutathione S-transferase (GSTs) e da N-acetil-transferase (NATs), entre outras. Substâncias tóxicas passam por um processo de biotransformação que se divide em duas fases. A fase I é mediada basicamente pelas enzimas citocromo P450. São elas que, geralmente, promovem a ativação de drogas e pró-carcinógenos para os intermediários eletrofílicos genotóxicos. Nesta fase, podem ser formados metabólitos reativos, altamente carcinogênicos, que são, por sua vez, biotransformados pelas enzimas inativadoras da fase II, tais como as GSTs e NATs em compostos mais hidrossolúveis e fáceis de eliminar (Hatagima, 2002).

Além da ação contínua e direta dos xenobióticos anterior ao processo de sua eliminação, tanto a maior atividade das enzimas da fase I quanto a

baixa atividade das enzimas da fase II podem gerar um acúmulo de metabólitos reativos. Estes, por sua vez, podem reagir com as macromoléculas da célula, tais como o DNA, formando os adutos de DNA, que, quando não reparados, podem causar mutações e iniciar o desenvolvimento do câncer. Portanto, a incapacidade de eliminar adequadamente produtos tóxicos pode contribuir para a maior susceptibilidade ao câncer (Mitrunen et al., 2001). A ocorrência de mutações nos genes codificadores destas enzimas pode levar à perda de função ou função alterada das enzimas resultando na ausência total da enzima, na produção de enzimas defeituosas, parcialmente defeituosas ou com especificidades aos substratos alteradas.

Diferenças interindividuais e interétnicas marcantes quanto à capacidade de metabolizar drogas e outros xenobióticos têm sido observadas (Board, 1981; Nelson et al., 1995). A variabilidade interindividual no metabolismo de xenobióticos está associada com a maior ou menor susceptibilidade à toxicidade ou risco de câncer, em resposta à mesma exposição a um determinado poluente ambiental. Indivíduos incapazes de desintoxicar adequadamente um metabólito ou agente carcinogênico ou tóxico, devido a uma atividade enzimática precária, sofreriam mais danos genéticos e celulares como a formação de aductos de DNA, instabilidade genômica, e, conseqüentemente, teriam um risco maior de desenvolver toxicidade ou câncer (Raunio et al., 1995).

Outra fonte, potencialmente importante na variabilidade interindividual em relação ao desenvolvimento do câncer é a capacidade de reparo do DNA. Há uma variação substancial nesta capacidade entre os indivíduos, sendo menor entre gêmeos idênticos, indicando que esteja sob controle genético (Cloos et al., 1999). Além disso, genes envolvidos no controle do ciclo celular e na regulação e desenvolvimento do sistema imune também podem ter um papel importante na carcinogênese. A variação funcional nestes genes, provavelmente tem um efeito sutil sobre o risco de câncer a nível individual, mas poderia apresentar um impacto razoável em populações grandes porque polimorfismos relevantes podem ser altamente prevalentes (Perera, 1997; Brennan, 2002).

## **POLIMORFISMOS GENÉTICOS E AGROTÓXICOS**

Os agrotóxicos representam um importante grupo de poluentes ambientais aos quais o homem está diariamente exposto devido ao seu amplo

uso na agricultura e no lar. Uma preocupação especial a este respeito se refere aos efeitos prejudiciais à saúde do homem, incluindo os efeitos genotóxicos que podem levar ao desenvolvimento do câncer e de várias outras doenças. Por exemplo, um risco significativamente maior de leucemias (Brown et al., 1990; Blair et al., 1992) e câncer de bexiga (Viel & Chalker, 1995) tem sido observado em fazendeiros quando comparados com não fazendeiros.

Os danos cromossômicos são biomarcadores relevantes para a predisposição ao câncer (Hagmar et al., 1994), e o biomonitoramento citogenético realizado em células somáticas é considerado ferramenta importante para avaliar os possíveis efeitos genotóxicos de uma determinada exposição. Diferentes estudos, com resultados conflitantes, têm sido realizados nas populações humanas ocupacionalmente expostas a agrotóxicos, usando diferentes indicadores de danos genéticos, principalmente os citogenéticos. As diferenças dos efeitos citogenéticos avaliados e as medidas de proteção adotadas pelos trabalhadores agrícolas poderiam explicar parte da contradição entre os resultados observados. Além disso, também devem ser consideradas as alterações na fórmula dos agrotóxicos e as várias misturas utilizadas nas práticas agrícolas, o que torna a avaliação complexa. Por isso, é extremamente necessária uma reavaliação constante dos seus potenciais efeitos na saúde (Lucero et al., 2000).

O risco de danos genéticos não depende apenas do potencial genotóxico dos agentes ambientais, mas também da capacidade individual de defesa contra os efeitos adversos destes agentes. Assim, genótipos responsáveis pela diferença interindividual na habilidade de ativar e desintoxicar substâncias genotóxicas são reconhecidos como biomarcadores de suscetibilidade para a mutação, câncer e outras doenças (Srám, 1998). Neste contexto, um enfoque interessante e atual tem sido a análise de determinados genótipos para identificar possível suscetibilidade genética à exposição a agrotóxicos. Atualmente há uma tendência crescente para se considerar o perfil metabólico dos indivíduos selecionados para o biomonitoramento, pois alguns estudos têm evidenciado que as enzimas metabolizadoras de xenobióticos parecem associadas a uma maior/menor suscetibilidade aos efeitos genotóxicos dos produtos químicos. A presença de maior atividade das enzimas desintoxicadoras protegeria as células dos efeitos genotóxicos enquanto o aumento da atividade de enzimas ativadoras, responsável pela geração de intermediários reativos, seria prejudicial (Watson et al., 1999).

Portanto, outro enfoque consiste na investigação de subgrupos para polimorfismos genéticos responsáveis pela metabolização de substâncias tóxicas e carcinogênicas, possivelmente envolvidas na modulação da suscetibilidade. Resultados de um estudo nos Estados Unidos não encontrou associação entre vários polimorfismos, como a GSTM1, GSTT1, GSTP1 e COMT, com níveis de DDE no soro ou de PCB e câncer de mama (Helzlsouer et al., 1999). Porém, em outra pesquisa, encontrou-se um risco maior para câncer de mama associado com níveis maiores do que a média de PCB no soro somente entre mulheres com um determinado polimorfismo para CYP1A1 (Moysich et al., 1999).

Scarpato et al. (1996) analisaram 23 floricultores italianos e 22 controles expostos a inseticidas em *spray* quanto à indução de trocas de cromátides irmãs (SCE), aberrações cromossômicas estruturais (AC) e micronúcleos (MN). Também foram determinados os fenótipos para os polimorfismos genéticos GSTM1, GSTT1 e NAT2. A única influência significativa dos fenótipos sobre a resposta citogenética foi um aumento nos níveis de SCE nos indivíduos GSTT1 positivos, comparados com os GSTT1 nulos ( $p=0,02$ ). Entretanto, esta análise se baseou em apenas quatro indivíduos GSTT1 nulos ( $n=41$  para doadores GSTT1 positivos). Gregio D'Arce & Colus (2000) também não observaram diferença significativa da distribuição dos genótipos GSTM1 em relação a AC e índices mitóticos em uma amostra de vinte trabalhadores brasileiros expostos a agrotóxicos.

## AGROTÓXICOS E CÂNCER NO BRASIL

Diversos estudos realizados no Brasil mostram associações entre a exposição a agentes químicos, incluindo agrotóxicos, e o desenvolvimento de câncer. O emprego massivo destes no ambiente vem crescendo de forma importante, o que tem resultado na observação de níveis elevados de resíduos na população geral, não exposta diretamente a eles, ocupacionalmente (Paumgartten et al., 1998; Delgado et al., 2002). A questão da exposição a resíduos de agrotóxicos indevidamente comercializados, abrange, entretanto, proporções maiores, como observado por Ciscato, Gebara & Spinosa (2002), ao relatarem prevalência de resíduos de endossulfan em proporção maior que 10% em amostras comercializadas de leite de vaca. Sendo este agrotóxico de comercialização restrita a algumas lavouras, os



resultados apontados são indicativos de um provável emprego do mesmo em níveis acima do permitido.

Durante a década de 90, a importação e venda de agrotóxicos, sobretudo herbicidas, aumentaram de forma contínua no país, o que muito provavelmente se traduzirá em oportunidades diretas ou indiretas de exposição através da contaminação dos alimentos e cursos d'água. Mesmo em comunidades indígenas isoladas, têm sido descritos relatos da ocorrência de câncer potencialmente associados à exposição a agrotóxicos. Um destes trabalhos relata a ocorrência de uma agregação espaço-temporal de casos de câncer em adultos jovens na área indígena Mãe-Maria no Pará. Levantou-se a hipótese de que os mesmos poderiam resultar dos níveis séricos elevados de agrotóxicos organoclorados observados nesta comunidade, associados à a exposição contínua a campos eletromagnéticos originados de duas linhas de transmissão de alta tensão elétrica, localizadas no interior da área indígena (Koifman et al., 1998).

Em relação aos possíveis efeitos biológicos do processo de desregulação hormonal acarretado pela exposição a agrotóxicos no país, foram descritas a ocorrência de taxas elevadas de infertilidade e câncer de testículo em municípios com níveis altos de produção agrícola nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (Koifman, Koifman & Meyer, 2002), bem como alterações nas características do esperma de adolescentes saudáveis (Mori et al., 2002). Outras conseqüências potencialmente relacionadas à presença do fenômeno de alterações endócrinas poderiam ser exemplificadas, caso comprovadas epidemiologicamente no futuro, através do aparente aumento observado quanto à incidência de câncer de mama esporádico (sem antecedentes familiares de alto risco para a doença) em mulheres jovens, da incidência de doenças da tireóide na população geral e do aumento da infertilidade em casais jovens.

Em estudo realizado com a população residente nos arredores de uma antiga fábrica de agrotóxicos – contaminada com resíduos de HCH, DDT e pentaclorofenol – região esta conhecida como Cidade dos Meninos, no município de Duque de Caxias, RJ, observou-se, ao longo das décadas de 80 e 90, um aumento da mortalidade por câncer de pâncreas, fígado, laringe, bexiga e tumores hematológicos em homens, e de câncer de pâncreas e tumores hematológicos em mulheres. (Koifman, Koifman & Meyer, 2002). Não foi observado padrão similar de elevação na distribuição de

câncer em grupos populacionais vivendo nas áreas afastadas com mais de 12 km da área em foco.

Na região serrana do Rio de Janeiro, um dos principais centros agrícolas produtores de hortifrutigranjeiros e flores do estado, vem ocorrendo emprego extensivo de agrotóxicos. Um estudo ecológico da mortalidade por câncer em trabalhadores agrícolas do sexo masculino foi realizado nessa área entre as décadas de 70 e 90 (Meyer et al., 2003). Após comparar a mortalidade observada com aquela esperada, foram determinadas razões de chances de mortalidade (*mortality odds ratios*) por câncer, indicativas do risco de morte pela doença, mais elevadas para neoplasias de testículo, próstata, estômago, esôfago, fígado e tecidos moles em trabalhadores na faixa etária de 30 a 49 anos; e de estômago, esôfago e laringe na faixa de 50 a 69 anos. Embora trate-se de um estudo ecológico no qual exposições individuais aos fatores de risco para câncer nas diferentes localizações não foram analisadas, estes resultados são sugestivos da influência da exposição ocupacional a agrotóxicos no processo de carcinogênese, uma vez que os indicadores de risco foram analisados com três diferentes populações de comparação.

Em um estudo caso-controle para determinar a associação entre a exposição dos pais a agrotóxicos e o desenvolvimento de tumor de Wilms nos filhos, realizado com casos da doença diagnosticados em São Paulo, Belo Horizonte, Salvador e Jaú, foram observadas estimativas de risco elevadas para a exposição tanto paterna (OR 3,24, 95% C.I. 1,2-9,0) quanto materna, decorrente de trabalho agrícola, sobretudo em relação ao diagnóstico da neoplasia em maiores de dois anos, sendo também mais elevado em meninos do que em meninas (Sharpe et al., 1995).

Em estudo caso-controle multicêntrico explorando os fatores de risco de leucemias na infância com participação de crianças brasileiras, Alexander et al. (2001) relatam estimativas elevadas de risco de rearranjos do gene MLL em decorrência de diversas exposições durante a gravidez, incluindo o uso de dipirona (OR 5,84,  $p < 0,001$ ) e do inseticida Baygon (OR 9,68,  $p < 0,003$ ). Sendo os rearranjos do gene MLL associados ao desenvolvimento da leucemia infantil, os autores interpretam os resultados obtidos como sugestivos de sua associação em decorrência de ambas exposições, que considerando-se sua difusão em países como o Brasil, necessitam ser rapidamente confirmadas por outros estudos visando à adoção de medidas de prevenção através da limitação da exposição a tais agentes.

## CONCLUSÕES

Conforme apresentado, estudos epidemiológicos têm documentado a associação entre a exposição a agrotóxicos e o desenvolvimento de câncer em diferentes localizações anatômicas e faixas etárias, sobretudo em populações agrícolas diretamente expostas. A reprodução de resultados similares em investigações realizadas com populações em diferentes países, empregando metodologias distintas, sugere a natureza causal de muitas das associações descritas, como no caso dos tumores hematológicos, sobretudo linfomas não-Hodgkin. Entretanto, lacunas importantes no conhecimento científico permanecem, como é o caso da controvérsia existente entre a exposição a agrotóxicos organoclorados e o desenvolvimento de câncer de mama.

As hipóteses explicativas para o processo da carcinogênese associada à exposição aos agrotóxicos têm aumentado, sobretudo graças ao desenvolvimento de novas técnicas citogenéticas e de biologia molecular nas últimas décadas. Estas técnicas tornaram possível o monitoramento de alterações no DNA (ensaios do cometa e de micronúcleo) e a análise molecular (PCR – reação em cadeia da polimerase) de polimorfismos genéticos envolvidos nos mecanismos de metabolização de agentes xenobióticos e reparo do DNA, possibilitando a identificação de diferentes padrões de suscetibilidade frente a exposições aos agrotóxicos.

No Brasil, onde o consumo de agrotóxicos na agricultura vem se ampliando de forma contínua, a análise dos efeitos deste tipo de exposição ambiental começa a documentar um perfil epidemiológico da distribuição de câncer tanto em populações ocupacionalmente expostas a estes agentes químicos, como na população geral indiretamente afetada pela contaminação alimentar e dos recursos hídricos.

Em conjunto, os resultados descritos nestes estudos revelam o panorama de possibilidades de investigação sobre os efeitos do emprego de agrotóxicos no Brasil associados ao processo de carcinogênese, bem como a necessidade de que esta produção científica seja ampliada em parceria com diferentes campos do conhecimento. Desta forma, será possível aprofundar o conhecimento científico do tema em nossa realidade e a adotar medidas voltadas para a intervenção sanitária legal visando, principalmente, à prevenção de diversos tipos de câncer associados com a exposição ambiental aos agrotóxicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACQUAVELLA, J. et al. Epidemiologic studies of occupational pesticide exposure and cancer: regulatory risk assessments and biologic plausibility. *Ann Epidemiol*, 13(1): 1-7, jan. 2003.
- ALEXANDER, F. E. et al. Transplacental chemical exposure and risk of infant leukemia with *MILL* gene fusion. *Cancer Res*, 61(6): 2.542-2.546, mar. 2001.
- ALGUACIL, J. et al. Risk of pancreatic cancer and occupational exposures in Spain. PANKRAS II Study Group. *Ann Occup Hyg*, 44(5): 391-403, ago. 2000.
- ARAÚJO, A. C. et al. Pesticide impact on health: a study of tomato cultivation. *Revista de Saúde Pública*, 34(3): 309-313, jun. 2000.
- BELL, D. A. et al. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J Natl Cancer Inst*, 21, 85(14): 1.159-1.164, 1993.
- BISHOP, J. M. Molecular themes in oncogenesis. *Cell*, 64: 235-48, 1991.
- BLAIR, A. et al. Comments on occupational and environmental factors in the origin of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res*, 1, 52 (supl. 19): 5.501s-5.502s, 1992.
- BOARD, P. G. Biochemical genetics of glutathione S-transferase in man. *Am J Hum Genet*, 33: 36-43, 1981.
- BRENNAN, P. Gene-environment interaction and aetiology of cancer: what does it mean and how can we measure it? *Carcinogenesis*, 23: 381-387, 2002.
- BROWN, L. M. et al. Pesticide exposures and other agricultural risk factors for leukemia among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res*, 15, 50(20): 6.585-6.591, 1990.
- BURANATREVEDH, S. & ROY, D. Occupational exposure to endocrine-disrupting pesticides for developing hormonal cancers. *J Environ Health*, 64(3): 17-29, out. 2001.
- CALDAS, E. D. & SOUZA, L. C. de. Assessment of the chronic risk for ingestion of pesticide residues in the Brazilian diet. *Revista de Saúde Pública*, 34(5): 529-537, out. 2000.
- CALLE, E. E. et al. Organochlorines and breast cancer risk. *C A Cancer J Clin*, 52(5): 301-309, set.-out. 2002.
- CHARLES, M. J. et al. Organochlorines and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OhdG) in cancerous and noncancerous breast tissue: do the data support the hypothesis that oxidative DNA damage caused by organochlorines affects breast cancer. *Arch Environ Contam Toxicol*, 41(3): 386-395, out. 2001.
- CISCATO, C. H.; GEBARA, A. B. & SPINOSA, H. de S. Pesticide residues in cow milk consumed in São Paulo City (Brazil). *J Environ Sci Health B*, 37(4): 323-330, jul. 2002.
- CLOOS, J. et al. Inherited susceptibility to bleomycin-induced chromatid breaks in cultured peripheral blood lymphocytes. *J Natl Cancer Inst*, 7, 91(13): 1.125-1.130, 1999.

- COCCO, P. On the rumors about the silent spring: review of the scientific evidence linking occupational and environmental pesticide exposure to endocrine disruption health effects. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(2): 379-402, 2002.
- CONSTANTINI, A. S. et al. A Multicenter case-control study in Italy on hematolymphopoietic neoplasms and occupation. *Epidemiology*, 12(1): 78-87, jan. 2001.
- DANIELS, J. L. et al. Residential pesticide exposure and neuroblastoma. *Epidemiology*, 12(1): 20-27, jan. 2001.
- DELGADO, I. F. et al. Serum levels of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls among inhabitants of Greater Metropolitan Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(2): 519-524, mar.-abr. 2002.
- DOLAPSAKIS, G. et al. Mammographic findings and occupational exposure to pesticides currently in use on Crete. *Eur J Cancer*, 37(21): 1.531-1.536, ago. 2001.
- DOLL, R. & PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst*, 66(6): 1.191-1.308, 1981.
- FALCK, G. C. et al. Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism for GSTM1, GSTT1 and NAT2 in pesticide-exposed greenhouse workers. *Mutat Res*, 17, 441(2): 225-237, 1999.
- FATTORE, E.; FANELLI, R. & LA VACCHIA, C. Persistent organic pollutants in food: public health implications. *J Epidemiol Community Health*, 56(11): 831-832, nov. 2002.
- FLEMING, L. E. et al. National health interview survey mortality among US farmers and pesticide applicators. *Am J Ind Med*, 43(2): 227-233, fev. 2003.
- FRANKS, L. M. & TEICH, N. M. *Introduction to the cellular and molecular biology of cancer*. Londres: Oxford University Press, 1987.
- GAMMON, M. D. Environmental toxins and breast cancer Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. *Epidemiol Biom Prev*, 11(8): 686-697, ago. 2002.
- GREGIO D'ARCE, L. P. & COLUS, I. M. Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. *Teratog Carcinog Mutagen*, 20(3): 161-170, 2000.
- GROVER, P. et al. Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the Comet assay. *Mutagenesis*, 18(2): 201-215, mar. 2003.
- HAGMAR, L. et al. Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res*, 54(11): 2.919-2.922, 1994.
- HARDELL, L.; ERIKSSON, M. & NORDSTROM, M. Exposure to pesticides as risk factor for non-Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies. *Leuk Lymphoma*, 43(5): 1.043-1.049, maio 2002.
- HATAGIMA, A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(2): 357-377, 2002.
- HAYES, T. et al. Herbicides: feminization of male frogs in the wild. *Nature*, 419(6.910): 895-896, 2002.

- HEACOCK, H. et al. Childhood cancer in the offspring of male sawmill workers occupationally exposed to chlorophenate fungicides. *Environ Health Perspectives*, 108(6): 499-503, jun. 2000.
- HELZLSOUER, K. J. et al. Serum concentrations of organochlorine compounds and the subsequent development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biom Prev*, 8(6): 525-532, 1999.
- HOYER, A. P. et al. Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. *BMC Cancer*, (1): 8, jan. 2001.
- HOYER, A. P. et al. Organochlorines, p53 mutations in relation to breast cancer risk and survival: a Danish cohort-nested case-controls study. *Breast Cancer Res Treat*, 71(1): 59-65, jan. 2002.
- IARC (International Agency for Research on Cancer/World Health Organization). *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: DDT and associated compounds, 1997*. Lyon: Iarc, 1997.
- IARC (International Agency for Research on Cancer/World Health Organization). *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: DDT and associated compounds, 1997*. Lyon: Iarc, 1998.
- JAGA, K. What are the implications of the interaction between DDT and estrogen receptors in the body? *Med Hypotheses*, 54(1): 18-25, jan. 2000.
- JAGA, K. & BROSIUS, D. Pesticide exposure: human cancers on the horizon. *Ver Environ Health*, 14(1): 39-50, jan.-mar. 1999.
- JI et al. Human pancreatic acinar cells lack functional responses to cholecystokinin and gastrin. *Gastroenterology*, 121:1380-1390, 2001.
- KOIFMAN, S. et al. Cancer cluster among young Indian adults living near power transmission lines in Bom Jesus do Tocantins, Para, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14 (sup. 3): 161-172, 1998.
- KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R. J. & MEYER, A. Human reproductive disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(2): 435-45, mar.-abr. 2002.
- KUTZ, F. W.; WOOD, P. H. & BOTTIMORE, D. P. Organochlorine pesticides and polychlorinated + biphenyls in human adipose tissue. *Rev Environ Contam Toxicol*, 120: 1-82, 1991.
- LADEN, F. et al. *J Natl Cancer Inst*, 93(10): 768-776, maio, 2001.
- LONGNECKER, M. P.; ROGAN, W. J. & LUCIER, G. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBs (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annu Rev Public Health*, 18: 211-244, 1997.
- LOPEZ-CARRILLO, et al. Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women. *Eur J Cancer Prev*, 11(2): 129-135, abr. 2002.

- LUCERO, L. et al. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat Res*, 464: 255-262, 2000.
- MA, X. et al. Critical windows of exposure to household pesticides and risk of childhood leukemia. *Environ Health Perspec*, 110(9): 955-960, abr. 2002.
- MACLENNAN, P. A. et al. Cancer incidence among triazine herbicide manufacturing workers. *J Occup Environ Med*, 44(11): 1.048-1.058, nov. 2002.
- MCDUFFIE, H. H. et al. Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health. *Epidemiol Biom Prev*, 10(11): 1.155-1.163, nov. 2001.
- MCDUFFIE, H. H. et al. Canadian male farm residents, pesticide safety handling practices, exposure to animals and non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Am J Ind Med Suppl*, 2: 54-61, 2002.
- MCWILLIAMS, J. E. et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) deficiency and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biom Prev*, 4, 589-594, 1995.
- MEINET, R. et al. Leukemia and non-Hodgkin's lymphoma in childhood and exposure to pesticides: results of a register-based case-control study in Germany. *Am J Epidemiol*, 151(7): 639-650, abr. 2000.
- MENDONÇA, G. A. et al. Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int J Cancer*, 83(5): 596-600, 26, nov. 1999.
- MEYER, A.; SARCINELLI, P. N. & MOREIRA, J. C. Are some Brazilian population groups subject to endocrine disruptors? *Cadernos de Saúde Pública*, 15(4): 845-850, out.-dez. 1999.
- MEYER, A. et al. Cancer mortality among agricultural workers in Serrana Region, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Environ Res*, 2003.
- MILLIKAN, R. et al. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among African-American and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiol Biom Prev*, 9(11): 1.233-1.240, nov. 2000.
- MILLS, P. K. & ZAHM, S. H. Organophosphate pesticide residues in urine of farmworkers and their children in Fresno County, California. *Am J Ind Med*, 40(5): 571-577, nov. 2001
- MITRUNEN, K. et al. Glutathione S-transferase M1, M3, P1, and T1 genetic polymorphisms and susceptibility to breast cancer. *Epidemiol Biom Prev*, 10(3): 229-236, 2001.
- MORI ET AL. Chromosome translocations and covert leukemic clones are generated during normal fetal development. *Proc Natl Acad Sci*, 99:8242-8247, 2002.
- MOYSICH, K. B. et al. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. *Epidemiol Biom Prev*, 8(1): 41-44, 1999.
- NELSON, S. A. et al. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis*, 16(5): 1.243-1.245, 1995.
- PACHECO, A. O. & HACKEL, C. Chromosome instability induced by agrochemicals among farm workers in Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(6): 1.675-1.683, nov.-dez. 2002.

- PARKINSON, A. Biotransformation of xenobiotics. In: KLAASSEN, C. D. (Ed.) *Casarett & Doull's Toxicology: the basic science of poisons*. 5.ed. Nova Iorque/Saint Louis/São Francisco: McGraw-Hill, 1996. v. 6.
- PAUMGARTTEN, F. J. et al. Levels of organochlorine pesticides in the blood serum of agricultural workers from Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14, supl. 3: 33-39, 1998.
- PERERA, F. P. Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment, and prevention. *J Natl Cancer Inst*, 17, 88(8): 496-509, 1996.
- PERERA, F. P. Environment and cancer: who are susceptible? *Science*, 278: 1.068-1.073, 1997.
- PERERA, F. P. & WEINSTEIN, I. B. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis*, 21(3): 517-524, 2000.
- RAMIREZ, V. & CUENCA, P. Micronuclei frequency in lymphocytes of individuals occupationally exposed to pesticides. *Rev Biol Trop*, 49(1): 1-8, mar. 2001.
- RAUNIO, H. et al. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility; a review. *Gene*, 159: 113-121, 1995.
- RICHTER, E. D. & CHLAMTAC, N. Ames, pesticides, and cancer revisited. *Int J Occup Environ Health*, 8(1): 63-72, mar. 2002.
- ROMIEU, I. et al. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines; *Am J Epidemiol*, 152(4): 363-370, 15, ago. 2000.
- SAFE, S. H. Endocrine disruptors and human health-is there a problem? An update. *Environ Health Perspect*, 108(6): 487-493, jun. 2000.
- SAFI, J. M. Association between chronic exposure to pesticides and recorded cases of human malignancy in Gaza Governorates (1990-1999). *Sci Total Environ*, 284(1-3): 75-84, 4 fev. 2002.
- SCARPATO, R. et al. Cytogenetic monitoring of occupational exposure to pesticides: characterization of GSTM1, GSTT1, and NAT2 genotypes. *Environ Mol Mutagen*, 27(4): 263-269, 1996.
- SEIDEGARD, J. et al. Isoenzyme(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study. *Carcinogenesis*, 11(1): 33-6, 1990.
- SETTIMI, L. et al. Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. *Int J Cancer*, 104(4): 458-461, 20, abr. 2003.
- SHARMA-WAGNER, S. et al. Occupation and prostate cancer risk in Sweden. *J Occup Environ Med*, 42(5): 517-525, maio 2000.
- SHARPE, C. R. et al. Parental exposures to pesticides and risk of Wilms' tumor in Brazil. *Am J Epidemiol*, 141(3): 210-217, fev. 1995.
- SLEBOIS, R. J. et al. K-ras and p53 in pancreatic cancer: association with medical history, histopathology, and environmental exposures in a population-based study. *Cancer Epidemiol Biom Prev*, 9(11): 1.223-1.232, nov. 2000.
- SNEDEKER, S. M. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environmental Health Perspectives*, 109, supl. 1: 35-47, mar. 2001.



- SPIEWAK, R. Pesticides as a cause of occupational skin diseases in farmers. *Ann Agric Environ Med*, 8(1): 1-5, 2001.
- SRÁM, R. J. Effect of glutathione S-transferase M1 polymorphisms on biomarkers of exposure and effects. *Environ Health Perspec*, 106 (supl.1): 231-239, 1998.
- THORN, A. et al. Mortality and cancer incidence among Swedish lumberjacks exposed to phenoxy herbicides. *Occup Environ Med*, 57(10): 718-720, out. 2000.
- VENITT, S. Mechanisms of carcinogenesis and individual susceptibility to cancer. *Clin Chem*, 40: 1.421-1.425, 1994.
- VIEL, J. F. & CHARLIER, B. Bladder cancer among French farmers: does exposure to pesticides in vineyards play a part? *Occup Environ Med*, 52: 587-592, 1995.
- VOGELSTEIN, B. & KINZLER, K. W. *The Genetic Basis of Human Cancer*. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1998.
- WADDELL, B. L. et al. A. Agricultural use of organophosphate pesticides and the risk of non-Hodgkin's lymphoma among male farmers (United States). *Cancer Causes Control*, 12(6): 509-517, ago. 2001.
- WAGLEY, C. *Amazon Town: a study of man in the tropics*. Nova Iorque: The MacMillan Company, 1953.
- WARD, E. M. et al. Serum organochlorine levels and breast cancer: a nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol Biom Prev*, 9(12): 1.357-1.367, dez. 2000.
- WATSON, M. A. et al. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 19(2): 275-280, 1999.
- WEINSTEIN, I. B.; SANTELLA, R. M. & PERERA, F. P. Molecular biology and epidemiology of cancer. In: GREENWALD, P.; KRAMER, B. S. & WEED, D. L. (Eds.) *Cancer Prevention and Control*. Nova York: Marcel-Dekker, 1995.
- WOOLCOTT, C. G. et al. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). *Cancer Causes Control*, 12(5): 395-404, jun. 2001.
- ZAFAR, M. B. & TERRIS, M.K. Prostate cancer detection in veterans with a history of agent orange exposure. *J Urol*, 166(1): 100-103, jul. 2001.
- ZHENG, T. et al. Agricultural exposure to carbamate pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma. *J Occup Environ Med*, 43(7): 641-9, jul. 2001.

