



IDENTIFICAÇÃO DO POTENCIAL CARCINOGENÉTICO DE AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS UTILIZADOS NO SUBMÉDIO DO VALE DO SÃO FRANCISCO

Geórgia Barros de Lima, Ana Clara Lima Moraes, Cheila Nataly Galindo Bedor

Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-917 Petrolina, PE, Brasil

INTRODUÇÃO

Agrotóxicos são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento dos produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 1989).

Essas moléculas representam um grupo heterogêneo de compostos com variadas estruturas químicas e com diferentes toxicidades (PAVÃO; LEÃO, 2005) e podem ser classificados quanto à ação, ao grupo químico a que pertencem e a sua toxicidade.

O uso de agrotóxicos para combater pragas, doenças e ervas daninha, é

prática muito comum em todas as regiões do Brasil e vem se acentuando a cada ano. Tal situação exige controle e estudos que possibilitem o monitoramento de possíveis contaminações desses compostos do meio ambiente (GASPAR et al., 2005).

No Brasil, a região do submédio do Vale do São Francisco é um dos principais pólos produtores e exportadores de frutas, sendo especializada na produção de uva e manga. Os organofosforados são alguns dos produtos mais utilizados na fruticultura da região (BEDOR, 2008).

Organofosforados são um grupo de várias substâncias químicas, derivadas do ácido fosfórico, conhecidas como inibidores da acetilcolinesterase, anticolinesterásicos ou colinérgicos de ação indireta (FIKES, 1990; ROCHA, SPINOSA, 1992).

Dentre os efeitos crônicos causados pelo organofosforados, ou seja, efeitos caracterizados por surgimento

tardio, em meses ou anos, por exposição pequena ou moderada a produtos tóxicos ou a múltiplos produtos, estão danos irreversíveis, do tipo paralisias e neoplasias (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003).

A prevalência de afecções crônicas não transmissíveis tem se elevado e contaminantes ambientais, como é o caso dos agrotóxicos, podem estar associados às suas gêneses muitas vezes multifatoriais. Reconhecer essa possibilidade associativa é importante para o sistema de vigilância em saúde, que deve estar alerta para potenciais efeitos advindos de contaminações ambientais e ocupacionais e buscar a pesquisa de causas ambientais, como os agrotóxicos, na gênese de agravos de natureza crônica (MIRANDA et al, 2006).

É assim que, ao lado de se reconhecer o potencial carcinogênico de alguns agrotóxicos em animais, estudos epidemiológicos em humanos apontam a possibilidade de associação entre vários tipos de cânceres e exposição a agrotóxicos.

As principais neoplasias malignas associadas a agrotóxicos são: os cânceres de pulmão (ALAVANJA et al., 2004; LEE et al., 2004a; POTTI et al., 2003), de mama (O'LEARY et al., 2004), dos testículos (PIMENTEL, 1996), da tireóide (HURLEY; HILL; WHITING, 1998), da próstata (ALAVANJA et al., 2003), do ovário (PIMENTEL, 1996), do sistema hematopoiético (linfomas não - Hodgkin,

leucemias e mieloma múltiplo) (LEE et al., 2004b), além do câncer de estômago (VAN LEEUWEN et al., 1999).

Devido à alta complexidade envolvida na comprovação e identificação dos agrotóxicos associados ao câncer um recurso técnico recente vem se destacando. Este se baseia na construção de indicadores de carcinogênese na perspectiva do princípio da precaução, que consiste na análise do potencial carcinogênico de um agrotóxico sem a necessária comprovação da ocorrência deste efeito, utilizando-se de métodos químicos computacionais que estudam, por modelagem, a interação de espécies químicas com o DNA (BEDOR, 2008).

O princípio da precaução objetiva a prevenção de riscos ambientais. A aplicação desse princípio envolve não só o reconhecimento e a exposição das inerentes incertezas no que diz respeito aos eventuais efeitos das substâncias químicas sobre os seres humanos e o meio ambiente, mas também a admissão de nossa ignorância em relação ao problema e à indeterminância (AUGUSTO; FREITAS, 1998).

Segundo Bedor (2008) o modelo da carcinogenicidade química-quântica parece se tratar de uma opção viável para os sistemas de vigilância em saúde, na triagem de agrotóxicos com potencial carcinogênico, por serem de baixo custo e de resposta rápida.

Os métodos usuais de Química Quântica permitem uma caracterização de carcinógenos através da descrição das reações químicas envolvidas durante o processo no qual um produto é metabolizado até se transformar num carcinógeno efetivo que acaba por atacar o DNA. Este conhecimento pode ser utilizado como um modelo teórico de identificação de carcinógenos a partir de cálculos de orbitais moleculares, que são facilmente resolvidos pela disponibilidade atual de programas computacionais de interfaces amigáveis, com apoio de computadores usuais (BEDOR, 2008).

Esse modelo é conhecido como “modelo químico de carcinogênese” que resumidamente baseia-se na capacidade do DNA doar elétrons e dos carcinógenos recebê-los, tendo sido aplicado com sucesso para analisar a atividade carcinogênica de uma grande variedade de compostos como as aflatoxinas (PAVÃO et al, 1995), o DDT (LEÃO; PAVÃO, 1997), as dimetilnitrosaminas (LEÃO; PAVÃO, 2001) os benzopirenos, entre outras (LEÃO et al, 2005), além da atividade protetora para o câncer de substâncias antioxidante como: a vitamina C e o resveratrol (LEÃO et al, 2003).

Baseados nessas premissas este estudo teve como finalidade avaliar o potencial carcinogênico dos agrotóxicos organofosforados utilizados no submédio

do vale do São Francisco, através do método computacional da carcinogenicidade química-quântica.

REVISÃO

O estudo avaliou os agrotóxicos organofosforados: cadusafós, metidationa, clorpirofós e triazofós quanto ao potencial carcinogênico através do modelo químico-quântico computacional (Leão et al., 2005), que se baseia na propriedade eletrofílica dos carcinógenos e na transferência de elétrons do orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO) do DNA para o orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO) do carcinógeno.

Inicialmente os agrotóxicos tiveram suas fórmulas moleculares (descritas nas monografias da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) – do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - e confirmadas com dados na literatura científica) desenhadas nos programas HyperChem 7.01 (HyperChem, Inc 2002) e GaussView (Gaussview, Inc 200-2003).

Posteriormente foram calculados, através do Programa Gaussian 2003 (FRISCH, 2003), os seguintes parâmetros eletrônicos:

- ✓ Eletroafinidade: E_A ,
- ✓ Energia de interação carcinógeno-DNA

(considerando como a diferença de energia entre o HOMO e o LUMO (ΔE_{H-L}));

- ✓ Atração eletrostática carcinógeno-DNA (Δq - diferença das cargas positivas de átomos presentes no carcinógeno e a carga negativa do O₆ da guanina);
- ✓ Permeabilidade da membrana celular (μ - considerando apenas o momento dipolo do carcinógeno);
- ✓ Calor de formação do carcinógeno (H_f).

Os resultados numéricos desses parâmetros foram avaliados pela “Análise de componentes principais (ACP)”, que se trata de um tratamento estatístico, utilizado quando existe uma série de variáveis químicas e biológicas representando um conjunto multivariado de informação. A APC foi realizada pelo programa computacional STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., 2001).

Também foi realizada uma busca na literatura científica sobre os possíveis danos à saúde humana e ao ambiente, causados por esses agrotóxicos, para uma melhor compreensão da suas toxicidades e dos resultados da carcinogenicidade química desse estudo.

A Tabela 1 traz os parâmetros AM1 (E_a , $\Delta H-L$, Δq , μ , e H_f (KJ/mol)) dos organofosforados estudados juntamente com as substâncias controles, estes calculados por Bedor (2008).

Pavão e Leão (LEÃO, 1999) desenvolveram o modelo da carcinogenicidade química-quântica, tendo como base as interações que ocorrem entre os carcinógenos e o DNA. Há uma tendência de transferência de elétrons do DNA para o carcinógeno, expresso pelo parâmetro eletroafinidade e da energia de interação carcinógeno-DNA. Segundo, Leão et al, (2005) a afinidade eletrônica (E_A) é o descritor mais importante da carcinogênese química. Um composto deverá possuir uma alta ação carcinogênica quanto maior for sua E_A .

	E_a	$\Delta H-L$	ΔQ	μ	H_f
Água	-3,93	13,09	-0,12	1,86	-59,25
Etanol	-2,60	12,47	-0,06	1,55	-62,72
Benzopireno	1,92	7,56	0,30	0,04	87,19
Tetracloroeto	0,24	7,55	0,35	0,00	-28,12
aflotoxina Epox	0,72	7,96	0,10	3,03	-37,70
Resveratrol	-2,02	11,28	0,61	14,98	-104,07
vitamina C	-4,39	13,57	0,68	4,29	-295,35
AAS	-3,19	12,41	0,70	7,73	-165,98
Cadusafós	3	6,58	0,51	2,19	-142,76
Metidationa	3,56	6,12	0,46	5,19	-91,41
Clorpirifós	2,74	6,89	0,52	6,13	-143,25
Triazofós	2,51	7,14	0,38	8,25	-44,00

Tabela 1: Parâmetros AM1 dos organofosforados e substâncias controles

Como pode ser observado na figura 1 os resultados obtidos no PC1, que têm como maiores pesos E_a e H_f , e o PC2, com maior peso na variável Δq , separaram nitidamente os compostos em três grupos: potencialmente não-carcinógenos, potencialmente carcinógenos e protetores

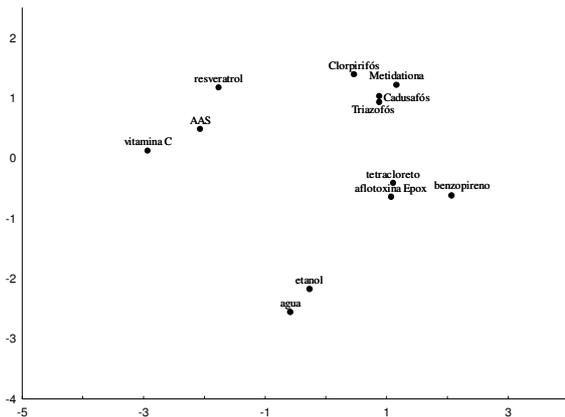


Figura1. APC de agrotóxicos organofosforados utilizados no submédio do Vale do São Francisco.

Os organofosforados (Cadusafós, Metidationa, Clorpirifós e Triazofós) ficaram agrupados em um local diferente dos carcinógenos, não-carcinógenos e protetores. Sendo então considerados substâncias pré-carcinogênicas, ou seja, substâncias que apresentam uma grande probabilidade de serem metabolizadas em carcinógenos efetivos.

De acordo com a Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992 (ANVISA), os agrotóxicos podem ser classificados, segundo a toxicologia, extremamente tóxicos (Classe I), Altamente tóxicos

(Classe II), Medianamente tóxicos (Classe III) e Pouco tóxicos (Classe IV). Essa classificação não leva em consideração os efeitos comprovadamente carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos dessas substâncias.

O Cadusafós é considerado da Classe I, já a Metidationa e o Triazofós são considerados da Classe II. Enquanto que o Clorpirifós não entra na classificação toxicológica, tendo sido determinada à suspensão do seu registro, bem como a não-concessão de novos registros à base do ingrediente ativo Clorpirifós, pela Resolução-RDC nº 206 de 23/08/04, DOU de 24/08/04. O objetivo da medida é evitar danos à saúde decorrentes da ação neurotóxica desse inseticida, não tendo relação comprovada com uma ação carcinogênica.

Existe, ainda hoje, muita controvérsia com relação a alguns efeitos tóxicos crônicos dos organofosforados para o ser humano, como teratogenicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade (GRIZA et al, 2008) Segundo Bedor, 2008 isto ocorre pela insuficiência de modelos sensíveis e específicos para esse fim. Ainda segundo a autora, uma consequência disto é, por exemplo, quando muitas substâncias que se mostram carcinogênicas para animais e apresentam diversos indicadores de mutagenicidade, não recebem a classificação de carcinogênicos para

humanos por falta de resultados consistentes de estudos epidemiológicos.

Porém, no Brasil, segundo a Lei Federal nº7. 802 de 11/07/1989 (BRASIL, 1989) são proibidos o registro de agrotóxicos com potenciais mutagênicos e/ou carcinogênicos, o que mostra a importância de modelos que identifiquem essa associação.

Bedor 2008 afirma que os agrotóxicos com resultados contraditórios quanto ao seu potencial carcinogênico, devem ter seus metabólitos estudados, uma vez que esses podem representar os verdadeiros carcinógenos. Segundo Pavão e Leão (2005), quando existe informação sobre a natureza do carcinógeno efetivo, podem ser incluídos nos cálculos a diferença do calor de formação do pré-carcinógeno e do carcinógeno efetivo aumentando a precisão do método.

Na literatura científica são escassos trabalhos que abordem os efeitos carcinogênicos e mutagênicos desses organofosforados,

Segundo Chen et al (1981) a metidationa foi responsável por um atraso do ciclo celular em 2 linhagens de células humanas sugerindo um potencial mutagênico. Pasquini et al (1994) relatou que após o tratamento de ratos com a mistura de agrotóxicos, entre eles a metidationa, o número de focos pré-

neoplásicos nesses animais foi significativamente aumentado, resultando em um risco potencial de câncer decorrente da atividade de promoção desses agrotóxicos.

Quest et al (1990) classificou a metidationa como um possível carcinógeno humano com base em evidências de um aumento da incidência de tumores benignos e malignos hepatocelulares, sozinho ou em combinação, em um único estudo envolvendo camundongos machos Chr-CD-1.

Houve apenas um estudo discordante dessa associação, utilizando uma mistura de agrotóxicos, entre eles a metidationa, em linfócitos humanos in vitro. A relação entre linfócitos policromáticos da medula óssea e normocromáticos (um sinal de toxicidade celular) foi diminuído com a exposição, mas não foi observado um aumento significativo na frequência de micronúcleos, indicando que a mistura não tem atividade genotóxica significativa (DOLARA et al., 1993)

Quanto aos triazofóis, Velázquez et al (1990) a partir de um estudo experimental investigou os possíveis efeitos genotóxicos desse agrotóxico, avaliando a capacidade de induzir mutações em genes e cromossomos de células germinativas masculinas de *Drosophila melanogaster*. Os resultados mostraram mutações

pontuais, quando analisadas no teste Recessivo Letal Ligada ao Sexo (SALR) e um aumento fraco na frequência da não-disjunção, mas foram negativos no teste de perdas cromossômicas ligadas ao sexo (SCL). O efeito observado aproxima-se dos encontrados no método computacional da carcinogenicidade química-quântica que o classifica como pré-carcinogênico com grande probabilidade de serem metabolizados em carcinógenos efetivos, uma vez que a mutação no DNA é a alteração genuína do processo de carcinogenicidade (RIBEIRO; SALVADORI; MARQUES, 2003)

Em uma ampla revisão literária nas principais bibliotecas virtuais como pubmed e web of science, referência em saúde, nenhum artigo foi encontrado com estudos de associação de cadusafós e/ou clorpirifós e câncer o que destaca os resultados da avaliação desse estudo pelo modelo da carcinogenicidade química como pioneira para esses compostos.

É importante salientar que segundo o princípio da precaução quando não se tem certeza do dano que uma substância pode causar ao homem e ao ambiente, esta deve ser considerada como danosa até a descrição do seu verdadeiro potencial de risco.

CONCLUSÃO

O método computacional da carcinogenicidade química-quântica serviu como instrumento de baixo custo e forneceu informações sobre o potencial carcinogênico dos organofosforados estudados.

Mesmo tendo o cadusofós, a metidationa, o clorpirifós e o triazofós sido classificados como pré-carcinógenos, não foi excluída nem comprovada a associação destes com os processos carcinogênicos ou mutagênicos. Sendo então, necessário, estudos do potencial carcinogênico, também pelo modelo químico quântico, dos metabólitos dessas substâncias.

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão de bolsa de Iniciação Científica da aluna Geórgia Barros de Lima e ao financiamento do Projeto (Nº 567717/2008 - 9).

REFERÊNCIAS

- ALAVANJA, M. C. et al. Use of Agricultural Pesticides and Prostate Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort. **American Journal of Epidemiology**, v.157, n. 9. p. 800-814. 2003.
- ALAVANJA, M.C. et al. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. **Am J Epidemiol.**, v. 160, n. 9. p. 876-85. 2004.

AUGUSTO, L. G. S., FREITAS, C. M., O Princípio da Precaução no uso de indicadores de riscos químicos ambientais em saúde do trabalhador. **Ciênc. saúde coletiva [online]**. v.3, n.2, p.85-95. 1998

BEDOR, C. N. G., **Estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua implicação para a vigilância da saúde**. 2008. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Recife, 2008.

BRASIL. Lei nº 802, 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 de julho de 1989. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L7802.htm. Acesso em: 18 maio 2010.

CHEN H. H. et al Induction of sister-chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides **Mutat Res.** V. 88, n.3, p.307-316. 1981

DOLARA P. et al Genetic toxicity of a mixture of fifteen pesticides commonly found in the Italian diet. **Cell Biol Toxicol.** v. 9, n.4, p. 333-343. 1993

FIKES, J .D. Organophosphorus and carbamate insecticides. **Veterinary Clinics North American: Small Animal Practice**, v. 20, n. 2, p.353-367, 1990.

FRISCH, M, et al. **GAUSSIAN 03. Revision A. 1**, Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 2003.

GASPAR, S. M. F. S., et al. Avaliação de risco de pesticidas aplicados no município de Arari, Maranhão, Brasil: Base para programa de controle ambiental do rio Mearim. **Pesticidas: R. ecotoxicol. e meio ambiente**, v. 15. 2005.

GAUSSVIEW. **Gaussian, Carnegie Office Park** – Pittsburg, PA. 2000 -2003.

GRIZA, F. T., ORTIZ, K. S., GEREMIAS, D., THIESEN, F. V. Avaliação da contaminação por organofosforados em águas superficiais no município de Rondinha - Rio Grande do Sul. **Quím. Nova [online]**. v.31, n.7, p. 1631-1635.2008,

HURLEY, P. M., HILL, R. N., WHITING, R. J. Mode of Carcinogenic Action of Pesticides Inducing Thyroid Follicular Cell Tumors in Rodents. **Environmental Health Perspectives**, v. 106, n.8, p. 437-45,1998.

HyperChem® Release 7 for Windows. Hypercube, Inc. Jan. 2002.

LEÃO, M. B. C., PAVÃO, A.C. A Molecular Orbital Analysis Of Chemical Carcinogens. **Int. J. Quantum Chem.**, v. 62, p. 323-328. 1997.

LEÃO, M. B. C. **Um modelo teórico para a carcinogenicidade química**. 1999. Tese (Doutorado em Química fundamental) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1999.

LEÃO, M.B.C., PAVÃO, A.C. An electron transfer mechanism for the dimethylnitrosamine carcinogen action. **Journal of Molecular Structure**, v. 539, p. 297-301. 2001.

LEÃO, M.B.C, et al. Cancer Protector Activity of Antioxidant Compounds. **Journal of Molecular Structure**, v. 640, n. 1-3, p. 163-165. 2003.

LEÃO, M. B. C, et al. A multivariate model of chemical carcinogenesis. **Journal of Molecular Structure**, v. 710, p. 129-135. 2005.

LEE, W.J et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. **J Natl Cancer Inst**, v. 96, n. 23, p. 781-9, dec. 2004a.

LEE, W.J. et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. **Am J Epidemiol**, v.159, n. 4, p.373-80, fev. 2004b.

MIRANDA, A. C., MOREIRA, J. C., CARVALHO, R., PERES, F., Neoliberalismo. Uso de agrotóxicos e a crise da soberania alimentar no Brasil. **Rev Cienc. Saúde Coletiva**, v.12, n.1,p.7-14. 2007.

O'LEARY, E.S. et al. Pesticide exposure and risk of breast cancer: a nested case-control study of residentially stable women living on Long Island. **Environ Res.**, v. 94, n. 2, p. 134-44. 2004.

PASQUINI, R. et al Assay of linuron and a pesticide mixture commonly found in the Italian diet, for promoting activity in rat liver carcinogenesis **Pharmacol Toxicol.** v. 75 n. 3-4. p.170-176. 1994

PAVÃO, A. C., LEÃO, M. B. C. Riscos de carcinogênese química no controle do Aedes. In: AUGUSTO, L.G.S; CARNEIRO, R.M; MARTINS, P. H. (Org.). **Abordagem Ecológica Ensaio para o Controle da Dengue**. 1 ed. Recife: Editora Universitária da UFPE. 2005, v. 1, p. 213-226.

PAVÃO, A. C, et al. Structure and activity of aflatoxins B and G. **Journal of Molecular Structure**, v. 37, p. 57-60. 1995.

PERES, F., MOREIRA, J. C., DUBOIS, G. S., 2003. **Agrotóxicos, saúde e ambiente:**

uma introdução ao tema, pp. 21 - 41. In F Peres & JC Moreira (orgs). **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Fiocruz, Rio de Janeiro.

PIMENTEL D. Green revolution agriculture and chemical hazards. **Sci Total Environ**, v.188, n. 1, p. 86-98. 1996.

POTTI, A. et al. Effect of pesticide exposure on HER-2/neu overexpression seen in patients with extensive stage small cell lung carcinoma. **Clin Cancer Res**, v. 9, n.13, p. 4872, 2003.

QUEST J.A. et al , Evaluation of the carcinogenic potential of pesticides. 2. Methidathion, **Regul Toxicol Pharmacol.** v. 12, n.2, p.117-126. 1990

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

ROCHA, L. C. S.; SPINOSA, H. S. Praguicidas organofosforados e carbamatos: algumas considerações. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 16, n. 1/2, p. 41-44, 1992.

StatSoft, Inc (2001). **STATISTIC for Windows [computer program manual]**. 2300 East 14 th, street,Tulsa, OK 74104.

VAN LEEUWEN, J. A., et al. Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agroecosystems, 1987-1991. **International journal of epidemiology**, v. 28, p. 836-840. 1999.

VELÁZQUEZ A. et al. Mutagenic evaluation of the organophosphorus insecticides methyl parathion and

triazophos in *Drosophila melanogaster*
Journal Toxicol Environ Health v. 31,

n.4, p. 313-325. 1990