



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO DISRUPTORA DA DELTAMETRINA SOBRE A
TIREOIDE E FUNÇÃO HIPOFISÁRIA DE RATOS (GERAÇÕES F1 E F2)**

JULIO CEZAR DOS SANTOS

**CASCAVEL - PR
2018**

JULIO CEZAR DOS SANTOS

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO DISRUPTORA DA DELTAMETRINA SOBRE A
TIREOIDE E FUNÇÃO HIPOFISÁRIA DE RATOS (GERAÇÕES F1 E F2)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Strictu Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Oeste do Paraná, *Campus* de Cascavel, área de contração Fármacos e medicamentos, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Brugin Marek

Co-orientador: Prof. Dr. Fabiano Sandrini

**CASCADEL - PR
2018**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Santos, Julio Cezar dos
INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO DISRUPTORA DA DELTAMETRINA
SOBRE A TIREOIDE E FUNÇÃO HIPOFISÁRIA DE RATOS
(GERAÇÕES F1 E F2) / Julio Cezar dos Santos;
orientador(a), Carla Brugin Marek; coorientador(a),
Fabiano Sandrini, 2018.
81 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do
Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de
Ciências Médicas e Farmacêuticas, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

1. Ciências Farmacêuticas . 2. Toxicologia . 3.
Piretroides . 4. Gerações . I. Marek, Carla Brugin.
II. Sandrini, Fabiano . III. Título.

JULIO CEZAR DOS SANTOS

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO DISRUPTORA DA DELTAMETRINA SOBRE A
TIREOIDE E FUNÇÃO HIPOFISÁRIA DE RATOS (GERAÇÕES F1 E F2)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestre(a) em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr^a. Carla Brugin Marek

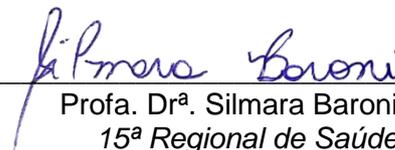
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr^a. Carla Brugin Marek
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE
Orientadora



Prof. Dr. Fabiano Sandrini
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE
Banca



Profa. Dr^a. Silmara Baroni
15ª Regional de Saúde
Secretaria Estadual de Saúde do Paraná
Banca

JULIO CEZAR DOS SANTOS

BIOGRAFIA RESUMIDA

Julio Cezar dos Santos, natural de Catanduvas, Paraná, Brasil; nascido no dia 14 de setembro de 1991; graduado em Farmácia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* de Cascavel em fevereiro de 2016. Entre os anos de 2011 e 2013 participou como plantonista no Projeto de Extensão Centro de Assistência em Toxicologia (CEATOX), desenvolvendo também seu Trabalho de Conclusão de Curso, intitulado Informatização do Centro de Assistência em Toxicologia de Cascavel, PR; sob orientação da Profa. Dra. Ana Maria Itinose. Desde novembro de 2014, atua no grupo de Pesquisa em Toxicologia Celular do Laboratório de Toxicologia da UNIOESTE, onde, foi monitor da disciplina de Toxicologia Clínica, no ano letivo de 2015 e realizou o Estágio Supervisionado em Ciências Farmacêuticas, no segundo semestre letivo do mesmo ano. Em 2016, ingressou no Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em nível de mestrado em Ciências Farmacêuticas e desde então desenvolveu projeto experimental de dissertação junto à linha Fármacos e Medicamentos, orientado pela Profa. Dra. Carla Brugin Marek e co-orientado pelo Prof. Dr. Fabiano Sandrini. Em fevereiro de 2017, teve ingresso na área de dispensação de medicamentos, trabalhando como Farmacêutico Plantonista na loja 753 de “Farmácias Pague Menos”, em Cascavel, Paraná. De dezembro de 2017 até a conclusão do mestrado, não possuindo vínculo empregatício, foi bolsista técnico-científico da Fundação Araucária.

“A vida é sobre escolhas. Algumas que lamentamos, algumas que ficamos orgulhosos. Nós somos o que escolhemos ser”

(Graham Brown)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a Deus Pai, que guiou todos meus passos, que permitiu que cada dificuldade fosse força para meu crescimento. “Obrigado por essa vitória, meu Senhor, obrigado por cada dia, obrigado pelos amigos, obrigado pela minha família. Sem ti, não sou nada.”

À minha Família: “a confiança, a companhia e amor de vocês foram essenciais para a conclusão dessa fase. Não tenho palavras para agradecer... Obrigado, meu irmão Ronald Felipe dos Santos, por ser meu amigo, do qual eu não preciso de abraços e textos gigantes, simplesmente um olhar para me passar confiança. Meu pai, Reinaldo dos Santos, que sempre trabalhou muito duro para que eu pudesse ter condições de iniciar e concluir o mestrado. Um incansável trabalhador, se dedicando à sua família. Obrigado, pai. Obrigado, minha mãe, Sueli de Fátima Siqueira dos Santos, por ser essa mãe dedicada, por sempre me dar carinho, amor, confiança e por ser motivo para eu nunca deixar de ter fé.”

Dedico este trabalho àquela que chegou em minha vida, junto com o mestrado, mas parece que faz muito mais tempo; minha companheira, minha amiga, minha namorada, Jailine Nicole Jankoski. “Obrigado, meu amor, por me levantar, me sacudir e por me fazer uma pessoa melhor, todos os dias; obrigado por me deixar próximo de Deus e por ser muitas vezes a razão que me faltava em meio às fortes emoções desse período.”

Dedico à pessoa que me ajudou não só na preparação para esse desafio, mas também me deu suporte e auxílio durante esse período no laboratório, a amiga, Fernanda Coleraus da Silva; aos amigos do Movimento Reviver, que não me deixaram desacreditado na vida espiritual, eles representam o equilíbrio que Jesus me trouxe. Agradeço também os meus grandes amigos Guilherme Griebel, Thiago Luiz Fucuta de Moraes e Thiago Oliveira.

Aproveitando esta dedicatória, gostaria de agradecer a minha orientadora, prof^a Dr^a. Carla Brugin Marek, pela paciência e confiança; pela oportunidade, que, desde a graduação, me proporcionou muito aprendizado na pesquisa. Agradeço também à prof^a Dr^a. Ana Maria, que foi indispensável nas minhas atividades dentro do grupo de Pesquisa, acrescentando muito para meu crescimento profissional. Obrigado ao prof^o. Dr. Fabiano Sandrini pela entrega por esse projeto, pelo tempo e compreensão. Sou muito grato também, aos colaboradores: o médico veterinário Fernando Salles e a Prof^a. Dr^a. Sara Cristina Sagae, os quais sempre foram muito gentis, dedicando tempo e oferecendo sugestões preciosíssimas para o êxito do presente trabalho. Obrigado às colegas Priscila Da Caz, Suélyn Koerich, Ana Julia Penteado, Fabiana Sari Ferreira, Isabella Calvo Bramatti e Angélica Reolon, com quem trabalhei nesse projeto tão desafiador. Por fim, obrigado a todos os estagiários que também contribuíram para a execução desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para o meu ingresso no Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciências Farmacêuticas. Obrigado à CNPq, CAPES e especialmente à FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA, da qual fui bolsista durante um período. Agradeço ao PCF e à UNIOESTE que contribuíram e possibilitaram a realização do trabalho.

Aos membros do Grupo de pesquisa em Toxicologia Celular CEATOX, os quais estiveram sempre presentes e disponíveis para auxiliar na pesquisa, juntamente com os colegas e professores, que também deram suporte à realização de tal pesquisa. Um agradecimento especial à Profa. Dra. Sara Cristina Sagae e ao médico veterinário Fernando Marques Salles, que foram essenciais para a preparação e execução do trabalho.

Aos membros da banca, os quais são fundamentais para o aprimoramento desta produção científica.

INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO DISRUPTORA DA DELTAMETRINA SOBRE A TIREOIDE E FUNÇÃO HIPOFISÁRIA DE RATOS (GERAÇÕES F1 E F2)

RESUMO

Pouco se sabe sobre a exposição crônica a piretroides, apesar disso, o contato com esse tipo de substância é comum e frequentemente têm-se verificado sua presença no leite materno e urina, além das detecções ambientais que por algumas vezes foram relacionadas com alterações biológicas diversificadas. O presente estudo visa avaliar as possíveis ações disruptoras da deltametrina em baixas doses sobre a tireoide, função hipofisária no desenvolvimento em transgerações de ratos. Para isso, foram utilizados seis ratos adultos não consanguíneos, albinos, da linhagem Wistar, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Todos os procedimentos experimentais seguiram *em concordância com* protocolo avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (CEUA/UNIOESTE). O grupo Tratamento recebeu uma injeção intraperitoneal diária de deltametrina na concentração de 0,01 mg.kg⁻¹ de peso corpóreo, entre o 8^o e 14^o dia de prenhez; o grupo Controle recebeu óleo de canola. As gerações seguintes (F1 e F2) não receberam tratamento e foram avaliadas quanto ao crescimento e desenvolvimento, através do peso ao nascer, índice de *Lee* e peso na eutanásia. Após a eutanásia, a glândula hipófise foi isolada e pesada. Foi observada uma correlação positiva entre variação de peso - ao longo da prenhez - e o número de filhotes nascidos. Não houve diferença entre os grupos Tratamento e Controle, no peso do nascimento dos ratos da primeira geração (F1). O peso de nascimento dos ratos da 2^a geração (F2), oriundos das ratas tratadas, foi menor, comparado ao peso daqueles oriundos de ratas controle. Ao avaliar o peso, o índice de *Lee* e o peso da hipófise na eutanásia, não houve diferenças estatísticas entre controle e tratamento. As fêmeas apresentaram hipófises maiores, se comparadas aos machos. Concluímos que a deltametrina interfere no peso de nascimento dos ratos e esta interferência obedece a um padrão transgeracional de implicação clínica.

Palavras-chave: Baixo peso ao nascer, Piretroide, Herança, Exposição materna, Prole

INVESTIGATION OF DISRUPTIVE ACTION OF DELTAMETHRIN ON THYROID AND PITUITARY FUNCTION IN RATS (F1 AND F2 GENERATION)

ABSTRACT

Little is known about chronic exposure to pyrethroids; however, contact with this type of substance is common and has often been found in breast milk and urine, in addition to environmental detections that have sometimes been related to diverse biological changes. The present study aims to evaluate the possible disruptive actions of deltamethrin in low doses on the thyroid, a hypopituitary function in the development in transgenerations of rats. For this, 6 non-consanguine adult, Wistar albino rats were used, provided by the Central Vivarium of the State University of the West of Paraná (UNIOESTE). All the experimental procedures were followed the protocol evaluated and approved by the Committee of Ethics in the Use of Animals of the State University of the West of Paraná (CEUA / UNIOESTE). The treatment group received a daily intraperitoneal injection of deltamethrin at the concentration of 0.01 mg.kg⁻¹ of body weight between the 8th and 14th day of pregnancy, the control group received canola oil. Next generations (F1 and F2) did not receive treatment and were evaluated for growth and development, by birth weight, Lee index and weight at euthanasia. After euthanasia, the pituitary gland was isolated and weighted. A positive correlation was observed between weight variation throughout pregnancy and the number of pups born. There was no difference between the treatment and control groups in the birth weight of first generation rats (F1). The birth weight of the 2nd generation (F2) rats from the treated rats was lower in comparison with the weight of those from the control rats. When assessing weight, Lee's index and pituitary weight at euthanasia, there were no statistical differences between control and treatment. Females had larger pituitary glands when compared to males. We concluded that deltamethrin interferes with the birth weight of rats and this interference follows a transgenerational pattern of clinical implication.

Keywords: Low Birth Weight, Pyrethroid, Inheritance, Maternal Exposure, Offspring

SUMÁRIO

BIOGRAFIA RESUMIDA	ii
DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABELAS DA REVISÃO DE LITERATURA	ix
LISTA DE TABELAS DO ARTIGO ORIGINAL	x
LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO DE LITERATURA.....	xi
LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO ORIGINAL	xii
1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivos gerais	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 Eixo hipotálamo-hipófise tireoide	15
3.2 Eixo hipotálamo-hipófise GH	18
3.3 Disruptores endócrinos	20
3.4 Praguicidas	23
3.5 Piretroides	26
3.6 A deltametrina	30
3.7 Herança trans e multigeracional	33
4 CAPÍTULO: ARTIGO ORIGINAL	35
5 CONCLUSÕES GERAIS DA DISSERTAÇÃO	59
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
7 ANEXOS.....	61
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

LISTA DE TABELAS DA REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 Piretroides com o item “Ingestão Diária Aceitável” disponível nas monografias autorizadas da sessão “Regularização de Produtos Agrotóxicos” do Portal ANVISA. A IDA é expressa em mg do agrotóxico por kg de peso corpóreo....30

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO ORIGINAL

Tabela 1. Frequências absoluta e relativa (%) de filhotes fêmeas e machos na primeira (F1) e segunda (F2) gerações dos grupos Controle e Tratamento. P-valor do teste de Qui Quadrado para Independência.	44
Tabela 2. Valores das estatísticas descritivas das variáveis quantitativas relacionadas ao ganho de peso na prenhez. P-valor da ANOVA fatorial para medidas repetidas.....	45
Tabela 3. Médias das variáveis Peso ao nascimento, Peso na eutanásia, Índice de Lee, Peso da hipófise em relação aos grupos (Controle e Tratamento), Geração (F1 e F2) e Sexo (Fêmea e Macho). P-valor da ANOVA fator triplo.....	47

LISTA DE FIGURAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 Regulação do eixo HPT.	15
Figura 2 Ativação celular pelos HT.....	17
Figura 3 Variação do GH durante o dia.....	19
Figura 4 Curvas não-monotônicas	22

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO ORIGINAL

- Figura 1. Diagrama de dispersão relativo à variação de peso ao longo da prenhez e número de filhotes nos grupos Controle e Tratamento..... 44
- Figura 2. Médias (IC95%) do peso nos períodos inicial e final da prenhez em ratas da primeira geração do grupo Controle e Tratamento..... 45
- Figura 3. Médias (IC95%) dos filhotes dos grupos Controle e Tratamento, das gerações F1 e F2, dos sexos feminino e masculino. A) Peso ao nascimento; B) Peso na eutanásia; C) Índice de Lee na eutanásia; D) Peso da Hipófise..... 47

1 INTRODUÇÃO

A deltametrina é um praguicida do grupo químico dos piretroides, rapidamente absorvida por via oral e alcança o sistema nervoso periférico e central. A deltametrina, como as outras substâncias da classe, atua principalmente através da interrupção dos canais de sódio nos axônios e experimentalmente, em animais, os sintomas variam de hiperexcitabilidade e tremores de corpo inteiro a corearestesia e a salivação. Os piretroides são muito utilizados na formulação de repelentes em várias apresentações, além de ativos em xampus veterinários, produtos de jardinagem, entre outros; favorecendo o contato não profissional, o uso indiscriminado, sem os devidos cuidados e precauções.

A partir dos anos 70, os piretroides vêm sendo utilizados para controle de pragas na agricultura e na saúde pública. No Brasil, com a proibição dos organoclorados, em 1985, favoreceu-se a busca por novas alternativas de agrotóxicos, como os piretroides. Além disso, essa classe de ativos inseticidas apresentou uma relativa baixa toxicidade aguda e aparente baixo impacto ambiental.

Pouco se sabe sobre a exposição crônica, apesar disso, essa exposição é frequente e se estende à ingestão de alimentos contaminados, como aponta o relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, criado pela Agência Nacional de vigilância sanitária. É importante uma detecção em ambientes internos, mas os piretroides seriam detectados em concentrações muito baixas pela volatilidade dessas substâncias. Além disso, têm-se verificado a presença de agrotóxicos no leite materno e urina, relacionado a alterações hormonais, anomalias congênitas, anomalias carcinógenas e, até mesmo, mortes.

O presente projeto se justifica considerando-se as alterações causadas pelos piretroides - em especial a deltametrina - e a importância dos hormônios, como os tireoidianos e do crescimento, para desenvolvimento, diferenciação celular e fatores reprodutivos. Aliado a isso, tem-se o conjunto de consequências das quais a exposição à xenobióticos podem causar durante a gravidez.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar as possíveis ações disruptoras da deltametrina sobre a função hipofisária e alterações no desenvolvimento em transgerações de ratos.

2.1. Objetivos Específicos:

- a. avaliar o ganho de peso durante prenhez da geração F1;
- b. verificar se houve diferença no peso das proles no nascimento;
- c. verificar se houve diferença no peso dos animais;
- d. avaliar o Índice de *Lee* (raiz cúbica do peso corporal (g) / comprimento nasoanal (cm) x 1000) na eutanásia e verificar se houve diferença entre os grupos;
- e. comparar o peso relativo da glândula hipófise em transgerações.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Eixo hipotálamo-hipófise tireoide

O hipotálamo, a hipófise e a tireoide formam o eixo hipotálamo-hipófise tireoide (HPT), que regula a concentração circulante de hormônios tireoidianos (HT). Entre os HT, encontram-se a 3,5,3'-triiodotironina (T3) e tetraiodotironina (T4, tiroxina); o hormônio estimulante da tireoide (TSH) é secretado pela hipófise anterior. Vários fatores podem regular os níveis de HT afetando o eixo HPT, direta ou indiretamente, mas a regulação do eixo HPT ocorre principalmente de acordo com os níveis de T3 e T4 (figura 1). Baixos níveis de T3 e T4 desencadeiam a liberação do hormônio liberador de tireotropina (TRH) pelo hipotálamo, que estimula a hipófise a produzir TSH, esse estimula a tireoide a produzir T3 e T4, até que os níveis plasmáticos retornem ao normal. Caso ocorra o aumento dos HT, exerce-se o controle de *feedback* negativo sobre o hipotálamo e a hipófise anterior, controlando assim a liberação de TRH e TSH (figura 1) (MULLUR; LIU; BRENT, 2014; ORTIGA-CARVALHO et al., 2016).

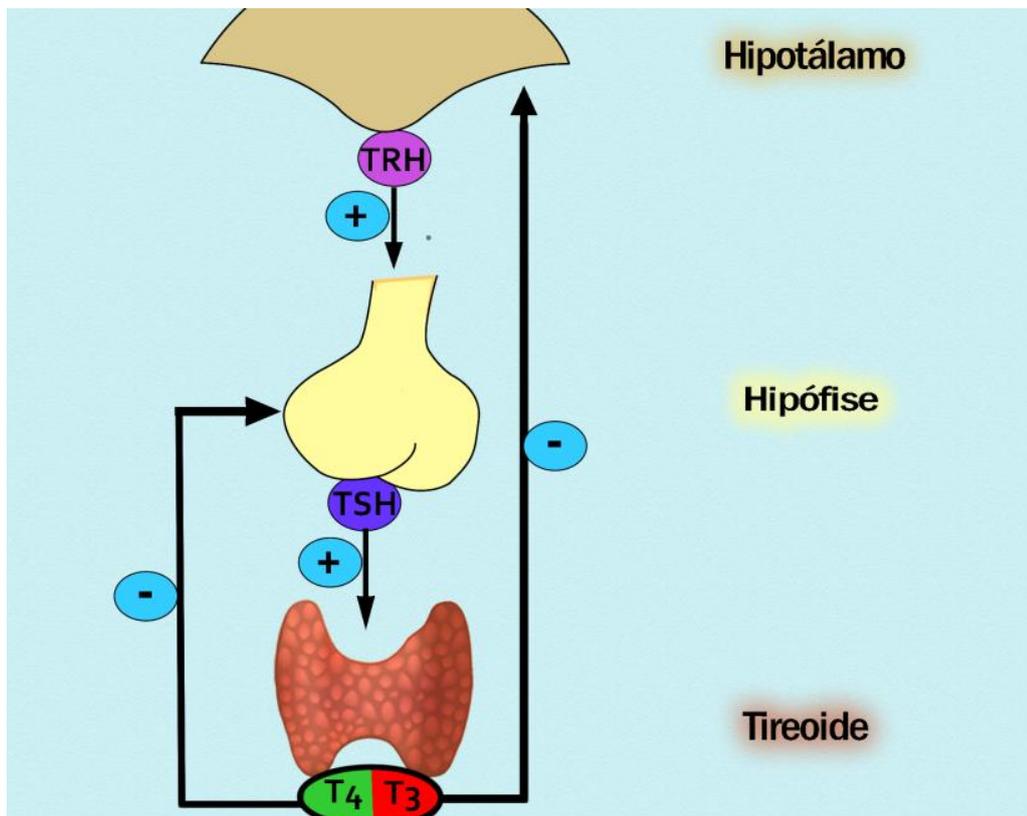


Figura 1 Regulação do eixo HPT.

O TSH estimula o processo de captação de iodo e a síntese de tireoglobulina (TG), que é produzida e usada pela glândula tireoide na produção de T4 e T3, a partir do aminoácido tirosina que se combina com o iodo pra formar os HT.

Conforme a TG é iodada, ocorre a produção de monoiototirosina e diiodotirosina; a ligação da monoiototirosina com diiodotirosina forma o T3, já duas diiodotirosinas formam o T4. O T4 é um pró-hormônio e sua forma ativa é o T3; a maioria do T3 é originário da conversão de T4 para T3 pela 5'-deiodinase tipo 2 (D2) e outras deiodinases nos tecidos periféricos. Nos seres humanos, aproximadamente 80% do T3 circulante é derivado de T4, e em ratos corresponde de 40% a 50% do T3 circulante total. (ORTIGA-CARVALHO et al., 2016).

Além do estímulo de TSH via TRH, o sistema nervoso central (SNC) também pode regular a função tireoidiana pelo sistema nervoso autônomo (SNA). A tireoide é innervada pelas fibras nervosas adrenérgicas do sistema nervoso simpático e pelos axônios colinérgicos provenientes do nervo vago; o SNA parece estar envolvido na regulação e síntese dos HT, contudo o mecanismo é incerto. (FEKETE; LECHAN, 2014).

Em humanos, quase o total dos hormônios circulantes da tireoide está ligado a proteínas plasmáticas (99%), produzidas pelo fígado. Aproximadamente 75% da T4 está ligada à globulina de ligação à tiroxina (TBG); 15-20% está ligada a transtirretina (TTR); o restante 5-10% é ligado à albumina ou é livre (0,02%) (SCHUSSLER, 2000). Em roedores as principais proteínas plasmáticas que se ligam aos HT são transtirretina (TTR) e albumina (CUNHA; VAN RAVENZWAAY, 2005). Cerca de 50% da T4 é liberada a cada seis dias; já metade da T3, devido sua menor afinidade pelas proteínas transportadoras, é liberada para as células em aproximadamente 24 horas. (HALL, 2017).

A ação dos HT é basicamente intracelular, levando a uma regulação de nível sistêmico (figura 2). Antes de agir nos genes, quase todos os T4 são convertidos a T3, os receptores intracelulares de HT têm afinidade muito alta pelo T3; conseqüentemente, mais de 90% dos HT que se ligam aos receptores são moléculas de T3. Em seguida, os HT levam ao aumento da transcrição dos genes específicos no núcleo celular através da ligação às proteínas do receptor (fatores de transcrição ativados). Essa interação nuclear dos HT ativa mecanismos genéticos para produção de mais de 100 proteínas intracelulares, dentre elas, enzimas que aumentam o metabolismo intracelular por todo o organismo. (HALL, 2017).

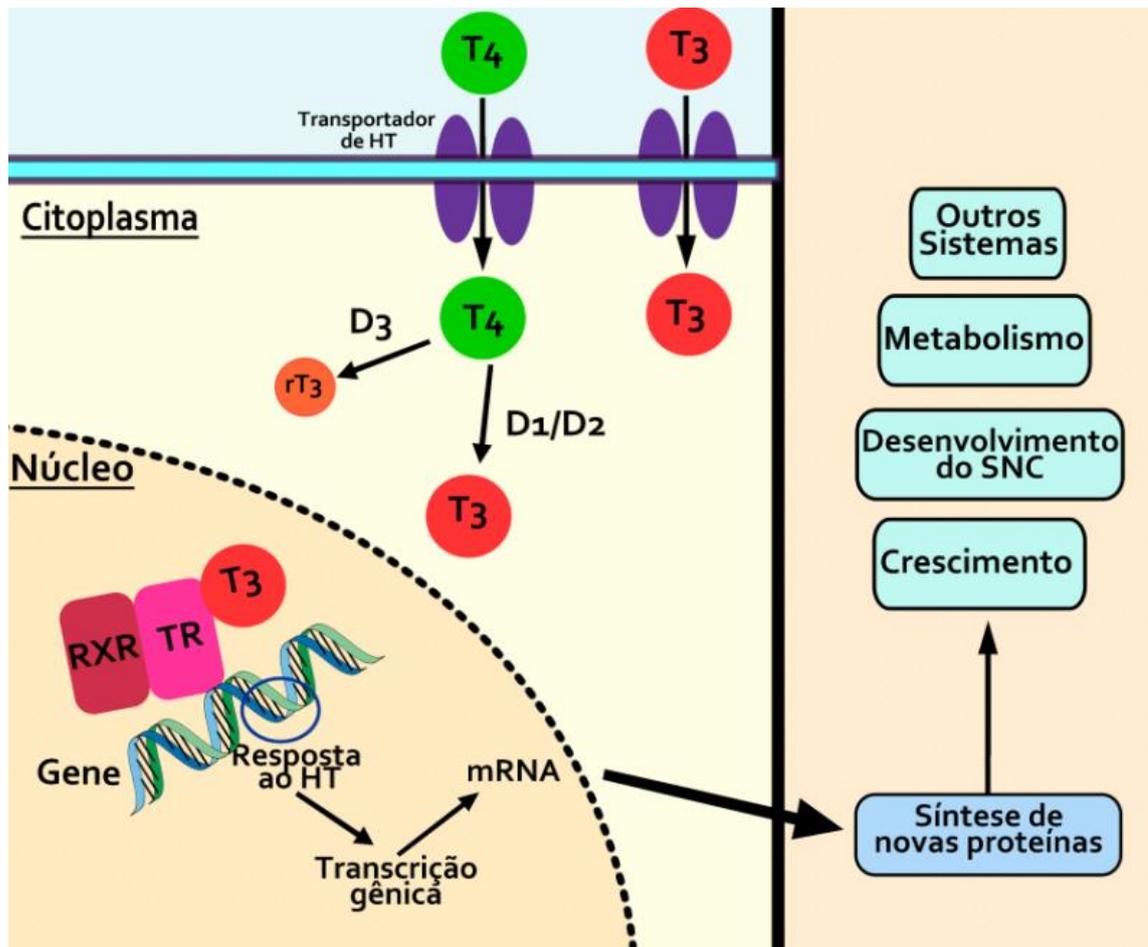


Figura 2 Ativação celular pelos HT - o T3 e T4 adentram a célula através de transportadores específicos dependentes de ATP. O T4 sofre a ação das deiodinases, formando T3 ou T3 reverso (rT3), o T3 interage com o receptor de hormônio tireoideano (TR) ligado como um heterodímero ao receptor de retinóide X (RXR) do elemento genético que responde ao HT, o que aumenta ou reduz a transcrição gênica que levam à formação de proteínas diversas, em vários tecidos e sistemas (BRENT, 2012; HALL, 2017).

Os HT têm variadas funções no organismo, como: controle do peso corporal, crescimento, regulação metabólica, termogênese e lipólise. Além de reguladores energéticos, os HT regulam vários genes e são essenciais ao neurodesenvolvimento fetal. (BRENT, 2012; SINHA; SINGH; YEN, 2014). Parte da função tireoideana fica evidente em quadros de deficiência de iodo materno ou hipotireoidismo congênito não tratado, nessas situações manifestam-se *déficits* neurológicos e retardo de crescimento, evidenciando a importância dos HT do desenvolvimento e crescimento. (BRENT, 2012; ZIMMERMANN, 2009).

Em relação ao peso corporal, uma grande elevação dos HT, quase sempre reduz o peso; assim como a diminuição dos HT, em geral, eleva o peso corporal; a razão disso não ser uma regra é que uma elevação dos HT também aumenta o apetite, o que compensa a alteração metabólica. (HALL, 2017). Uma disfunção de tireoide pode ter, também, consequências clinicamente significativas no apetite e no

peso corporal. Em contrapartida, atualmente acredita-se que o eixo HPT pode ter um papel direto na regulação hipotalâmica do apetite, independentemente dos efeitos sobre o gasto energético. (LAURBERG et al., 2012).

No desenvolvimento fetal, os HT são essenciais para promoção do crescimento e desenvolvimento do cérebro. Se o feto não secretar quantidade suficiente de HT, o cérebro não atinge o tamanho normal (HALL, 2017). Os HT estão presentes na placenta, líquido amniótico, soro fetal e cérebro e, apenas a partir da 18ª semana de gestação, a glândula tireoide do embrião torna-se funcional. Há presença de atividade de deiodinases ativadoras no cérebro embrionário, isso sugere que, mesmo sem a tireoide funcional, ocorre a formação de T3 a partir do T4 fornecido maternalmente (PRÉAU et al., 2015). A enzima deiodinase tipo 3 (D3) é importante nessa fase, já que tem uma expressão limitada ao sistema nervoso central na vida adulta e uma expressão muito alta na placenta e útero, podendo ter papel importante no desenvolvimento fetal (CHARALAMBOUS; HERNANDEZ, 2013).

Na infância é possível se observar o efeito dos HT no crescimento, já que, no hipotireoidismo, ocorre retardo no crescimento e nas crianças com hipertireoidismo observa-se crescimento esquelético excessivo (HALL, 2017). No entanto, o sistema protagonista quanto ao crescimento, se dá entorno do eixo hipotálamo-hipófise GH (growth hormone, do inglês “hormônio do crescimento”), um hormônio dinâmico, que, como a maioria dos hormônios, varia sua concentração e ação sob a influência de vários fatores. (JØRGENSEN et al., 2010)

3.2. Eixo hipotálamo-hipófise GH

A hipófise também é responsável pela produção do hormônio do crescimento (GH ou somatotropina) que, diferentemente dos outros hormônios hipofisários, não atua através de uma glândula alvo, mas exerce efeitos diretamente sobre quase todos os tecidos do organismo, que são capazes de crescer. Além do crescimento, o GH apresenta efeitos metabólicos, como, aumento da síntese de proteínas, aumento da mobilização de ácidos graxos como fonte de energia e redução da utilização da glicose pelo organismo (GUNAWARDANE et al., 2000; HALL, 2017). A secreção do GH se dá de forma pulsátil e diversos fatores relacionados à nutrição e ao estresse estimulam sua secreção: jejum, hipoglicemia, exercício, excitação, trauma e grelina,

um hormônio secretado pelo estômago; o GH também tem um pico durante as duas primeiras horas de sono profundo (figura 3). (HALL, 2017)

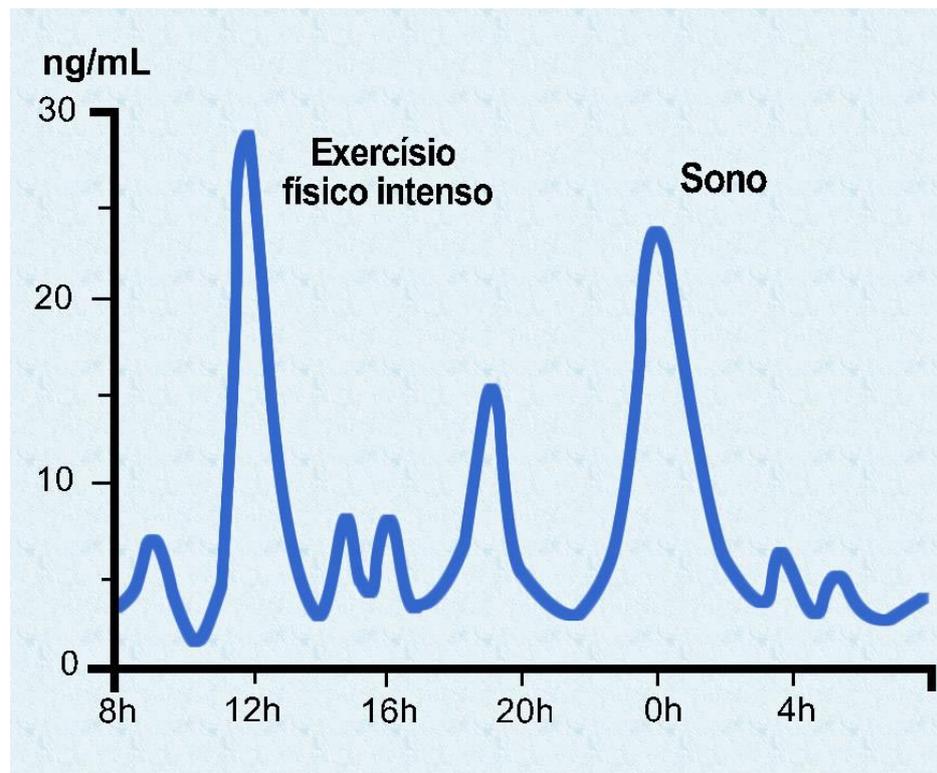


Figura 3 Variação do GH durante o dia, incluindo a prática de exercício físico intenso. Os valores do eixo “y” se referem a nanogramas de GH por mililitros de plasma humano. Modificado de HALL, 2017.

Dois hormônios hipotalâmicos regulam a secreção de GH, hormônio de liberação de hormônio de crescimento (GHRH) com uma ação estimuladora ao nível da transcrição de genes e o hormônio inibidor do hormônio do crescimento (somatostatina), que, como o próprio nome diz, tem efeito inibitório na secreção de GH hipofisário (JØRGENSEN et al., 2010). A maioria dos efeitos do GH ocorre através das somatomedinas, também chamados Fatores de crescimento semelhantes à Insulina. Dentre as somatomedinas conhecidas, a mais importante é a somatomedina C ou Fator de crescimento semelhante à Insulina tipo 1 (IGF-I), que tem um efeito estimulante de crescimento independente de GH, que, no que diz respeito às células da cartilagem, é possivelmente otimizado pela ação sinérgica com GH. Acredita-se também que o GH possa ser responsável pelo crescimento direto de alguns tecidos, sendo IGF-1, um meio alternativo para aumentar o crescimento. (HALL, 2017; LARON, 2001)

O fígado produz cerca de 75% de IGF-I e é principalmente regulado pelo GH, o restante da produção de IGF-I é regulada também por fatores parácrinos dependentes de tecido (JØRGENSEN et al., 2010). O receptor de IGF-I é expresso

em muitos tecidos no corpo e tem regulação complexa, incluindo uma ação de T4. (JØRGENSEN et al., 2010). Em locais como cérebro, coração e órgãos reprodutivos, amplamente independentes de GH, a regulação é feita por fatores como gonadotropinas ou estradiol (HULL; HARVEY, 2014). No útero, as células endométrias produzem IGF-I e IGF-II e também contêm os receptores de membrana para essas somatomedinas, que têm efeitos proliferativos, diferenciativos e metabólicos. Contudo, sabe-se que é o estradiol que estimula a expressão do gene de IGF no endométrio (RUTANEN, 1998) com o IGF-1 funcionando como um mediador extremamente importante no estímulo mitótico intrauterino do estradiol (E2). Portanto, IGF-1 e E2 são indispensáveis no crescimento intrauterino (ADESANYA et al., 1999).

3.3. Disruptores endócrinos

Vários produtos químicos comerciais são conhecidos como disruptores endócrinos (DE) e alguns ainda mais especificamente como disruptores dos hormônios tireoidianos (DHT), por interagirem na homeostase desses sistemas e causarem uma perturbação. Devido à sinalização e regulação desses hormônios ser muito complexa e envolver uma série de vias, transportadores e receptores, existe a possibilidade de alteração dos processos bioquímicos em vários níveis como no mecanismo de *feedback* do eixo HPT; na síntese, armazenamento e liberação dos HT; transporte e ligação à proteínas; absorção e metabolismo intracelular. (BRENT, 2012; GUTLEB; CAMBIER; SERCHI, 2016). A exposição aos DE no estágio inicial da vida pode levar a alterações permanentes e os HT são essenciais para desenvolvimento desde a embriogênese precoce até a neurogênese. Esses fatos reforçam a necessidade de analisar as consequências da exposição crônica a baixas doses de xenobióticos em vários estágios, em especial, durante a vida uterina (PRÉAU et al., 2015).

De forma mais precisa, um DE é descrito pela *U.S. Environmental Protection Agency* (EPA) como “agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, metabolismo, ligação ou eliminação dos hormônios naturais, responsáveis pela homeostase, reprodução e desenvolvimento” (US EPA, 2017). Esses produtos também são nomeados como moduladores endócrinos, hormônios ambientais, xenormônios, compostos ativos endócrinos e hormone-like chemicals (KANG et al., 2011; UNÜVAR; BÜYÜKGEBİZ, 2012; YANG et al., 2015). Apesar da grande

importância dada aos hormônios relacionados à reprodução, outros sistemas também são afetados por esses compostos, como tireoidiano, retinóide e esteróide (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009; GUTLEB; CAMBIER; SERCHI, 2016). Alguns produtos já demonstraram, além de poder reduzir a fertilidade, estar relacionados ao aumento de algumas doenças, como obesidade, diabetes, endometriose e alguns tipos de câncer (BIRNBAUM; FENTON, 2003; SHARPE; IRVINE, 2004).

Um grande número de compostos já foi identificado como DE, incluindo solventes industriais, plásticos, detergentes, cosméticos, alimentos, fungicidas, medicamentos e agrotóxicos (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009; YANG et al., 2015). O *Bisfenol A* (BPA, um plástico), por exemplo, teve o uso restrito no mundo inteiro através da Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2009). Esse tipo de política também foi aplicada com alguns ftalatos (dispersantes ou plastificantes), pela *União Européia* (UE) desde 1999 (UE, 1999) e nos Estados Unidos, a partir de 2008 (USA, 2008), demonstrando a importância da identificação das substâncias com essa atividade.

Entre os DEs, além de substâncias artificiais, encontram-se também produtos originários de fontes naturais. De qualquer forma, a maioria deles não foi projetada para levar a alterações na sinalização hormonal. Entretanto, pelo fato dos hormônios agirem em concentrações muito baixas - micromolar, nanomolar e até mesmo picomolar - a exposição às substâncias em questão pode ser mínima e mesmo assim ter a capacidade disruptora endócrina. Por conta disso, tem-se atribuído uma grande importância para os efeitos do contato a baixas doses (VANDENBERG et al., 2012).

A principal fonte de contaminação por DE é através dos alimentos (PERERA et al., 2003). Além da alimentação, o aumento do uso de produtos domésticos, somado à não ventilação adequada dos ambientes e contato ocupacional, tanto direta, quanto indiretamente, expõe a população a potenciais DE (HUDSON et al., 2014; WESCHLER, 2009). Embora esse contatos citados sejam mais evidentes, o contato durante a vida intrauterina, se faz relevante, uma vez que muitas substâncias podem afetar o embrião por meio do cordão umbilical. Entre essas substâncias estão compostos que podem influenciar na formação e no desenvolvimento. A exposição intrauterina a DE já foi associada à baixa estatura,

baixo peso ao nascer e circunferência da cabeça reduzida, em neonatos (PERERA et al., 2003; UNÜVAR; BÜYÜKGEBİZ, 2012).

Para identificar se um composto possui atividade disruptora endócrina ou não, são necessários inúmeros testes, tanto *in vitro* quanto *in vivo* e em diferentes concentrações. Concentrações baixas são importantes quando se fala sobre DE devido à característica não-monotônica dessas substâncias, ou seja, considerando-se uma curva dose-resposta, ela é não-monotônica quando a inclinação da curva muda de sinal dentro do intervalo analisado (Figura 4). A característica não-monotônica não é sinônimo de baixa dose, porque há efeitos em baixas doses que seguem curvas dose-resposta monotônicas, mas esse conceito da não-monotonicidade reitera a importância dos estudos em diferentes concentrações (SCHUG et al., 2013; VANDENBERG et al., 2012). Os efeitos observados podem ser devido a alterações nos mecanismos de *feedback* negativo dentro da regulação e secreção endócrina, esses efeitos também podem influenciar a relação dose-resposta dependendo da duração da exposição (LAGARDE et al., 2015).

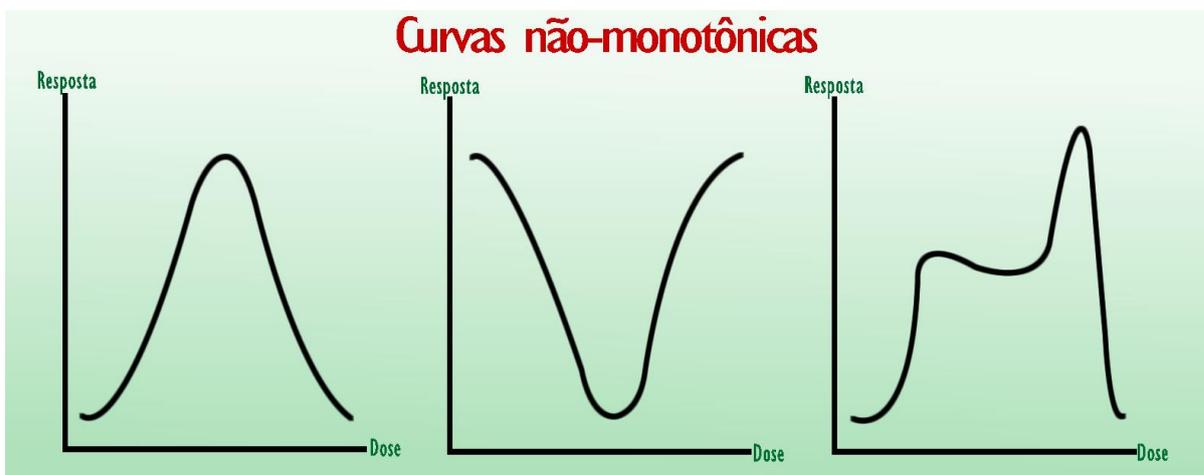


Figura 4 Curvas não-monotônicas: descreve-se uma relação dose-resposta através de uma curva cuja inclinação muda de direção no intervalo das doses testadas. Modificada de United States Environmental Protection Agency (US EPA, 2017).

3.3.1. Mecanismos de ação disruptores

O modo de ação que mais se estuda é pela atuação sobre os receptores endócrinos (RE) nucleares (YANG et al., 2015), modificando assim efeitos de *feedback* (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009). Pela distribuição dos subtipos de RE, considerando as diferenças estruturais e a afinidade relativa deles, os DE podem induzir a mudanças distintas, sendo antagonista ou agonista (YANG et al., 2015).

Esses produtos disruptores também podem atuar na programação metabólica, afetando no risco de obesidade. Alguns DEs parecem atuar no tecido adiposo, sistemas hormonais endócrinos ou eixo hipotálamo-hipófise e desencadear os mecanismos que alteram o controle de peso. O principal grupo de reguladores alvo é um grupo de RE nucleares conhecidos como *peroxisome proliferator activated receptors* (PPAR α , δ e γ), que são sensíveis à variação de fatores metabólicos, incluindo hormônios lipofílicos, ácidos graxos dietéticos e seus metabólitos, podendo até controlar a transcrição de genes envolvidos no balanço lipídico corporal. (GRÜN; BLUMBERG, 2009).

Alguns produtos conhecidos como Bifenilos policlorados (PCB) mostraram se ligar ao transportador de T4, TTR; até mesmo com maior afinidade pela TTR do que a própria T4, diminuindo a disponibilidade deste HT em vários tecidos e direcionando seletivamente esses produtos químicos para transporte e absorção (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009).

Os DEs podem alterar a expressão genética de agentes endógenos e alterar sistemas que interagem no sítio da expressão, como a perturbação da esteroidogênese testicular devido à ação inibitória de DE nos níveis de expressão gênica de IGF-1 e seu receptor em testículos de ratos e no fígado e testículos de camundongos (YEUNG et al., 2011). No estudo de Holloway e colaboradores demonstrou-se que o diclorodifenilcloroetileno (DDE) em concentrações nos mesmos níveis de contaminações em humanos, alterou a fator de crescimento endotelial vascular ovariano (VEGF) e a expressão de IGF-I local, tanto *in vivo* como *in vitro* (HOLLOWAY; PETRIK; YOUNGLAI, 2007).

Dentre as substâncias com atividade disruptora endócrina, os praguicidas (inseticidas, herbicidas e fungicidas) também se destacam pela quantidade de produtos com capacidade disruptora do sistema endócrino. (COCCO, 2002; MCKINLAY et al., 2007; RAUN ANDERSEN et al., 2002; SENGUPTA; BANERJEE, 2014; YAGLOVA; YAGLOV, 2016).

3.4. Praguicidas

A partir da década de 1950 iniciou-se uma crescente utilização dos praguicidas na agricultura, visando a maior produtividade (BRASIL, 2017). Essa crescente e constante utilização com finalidade de produção - não só desses praguicidas, mas de outros produtos químicos no meio ambiente - nos alerta para

um estudo mais aprofundado das suas toxicidades (MNIF et al., 2011). Os praguicidas utilizados na agricultura são conhecidos também como agrotóxicos, defensivos agrícolas, agroquímicos, pesticidas, venenos, etc. Essa nomenclatura varia de acordo com interesse dos grupos envolvidos e se estendeu também àqueles de uso doméstico, porém, o termo “agrotóxico” destaca a sua toxicidade e, conseqüentemente, os riscos da sua utilização (WAICHMAN, 2012).

O Brasil ocupa posição de liderança no consumo mundial desses produtos, posição antes ocupada pelos Estados Unidos (ABIFINA, 2016). Esse grande consumo torna relevante uma preocupação acerca desses produtos e sua interação com o ambiente e os seres vivos. No ano de 2012, dentre os casos de intoxicação por agrotóxico informados aos Centros de Informação e assistência Toxicológica (CIATox) do Brasil, 21 tiveram como causa reconhecida a ingestão de alimentos, chamando atenção para esse tipo de contaminação (BRASIL, 2012).

Os riscos do uso dessas substâncias vêm sendo destacados a partir da relação da proximidade de populações à atividade agrícola (e o uso de agrotóxicos) com alguns fatores relevantes, como: baixo peso ao nascer (XIANG; NUCKOLS; STALLONES, 2000); alterações congênitas e até mesmo mortes (BELL; HERTZ-PICCIOTTO; BEAUMONT, 2001). Além disso, vem demonstrando-se relações entre a exposição a praguicidas e à incidência de câncer de mama (SNEDEKER, 2001), câncer de próstata (ALAVANJA, 2003; VAN MAELE-FABRY; WILLEMS, 2004), neurocomportamentais (MEYER-BARON et al., 2015), entre outras relações (KOUREAS et al., 2012; MEYER et al., 2017; SCHMIDT et al., 2016; SKAKKEBAEK, 2002).

Um número considerável de praguicidas apresenta atividade disruptora endócrina *in vitro*. Demonstrou-se que herbicidas à base de glifosato podem ativar o *alfa receptor de estrogênio* (ER α) em células tumorais, apesar da exposição a diferentes concentrações terem demonstrado diferentes resultados, estes nos fornecem evidências da necessidade de uma atenção especial aos possíveis DEs. (MESNAGE et al., 2017; THONGPRAKAIKANG et al., 2013). O fipronil (um carrapaticida pirazol) foi administrado em ratas prenhes a partir do 6^o (sexto) dia de gestação e causou um distúrbio agressivo no comportamento materno dose-dependente (MAGALHÃES et al., 2015). Em outro estudo, que procurava estabelecer direcionamentos para obtenção de biomarcadores de intoxicação por praguicidas, o mesmo pirazol produziu maior efeito na função tireoidiana reduzindo

os hormônios, quando administradas baixas doses durante 14 dias, do que com dose única (MOSER et al., 2015).

A exposição a outros praguicidas também vem sendo relacionada com alterações tireoideanas (MCKINLAY et al., 2007). Demonstrou-se uma forte relação entre a exposição a organoclorados (OC) e alterações em nível de tireoide, com diferenças entre homens e mulheres (FREIRE et al., 2013). Já o organofosforado (OP) malathion foi associado ao risco aumentado de câncer na tireoide (LERRO et al., 2015). Ademais, o uso do clordano (OC), benomil, maneb (fungicidas) e paraquat (herbicida) foi relacionado ao hipotireoidismo em esposas de aplicadores desses praguicidas, sendo que os fungicidas também tiveram relação com o hipertireoidismo, mostrou-se uma prevalência de doença da tireoide acima da encontrada na população em geral (GOLDNER et al., 2010). Em uma avaliação dos próprios aplicadores, o hipotireoidismo foi associado ao uso de seis herbicidas e oito inseticidas (OC, OP e carbamatos), de um total de cinquenta praguicidas analisados, apresentando resultado semelhante ao estudo com as cônjuges da mesma população (GOLDNER et al., 2013).

A exposição ocupacional ao aldrin (OC), pendimetalina (dinitroanilina), brometo de metila (halogenado alifático) alteraram a função tireoidiana de aplicadores destes praguicidas (LERRO et al., 2017). Já a exposição perinatal à clordecona, um OC, demonstrou afetar os níveis de TSH e HT aos 3 meses, com diferenças de acordo com o sexo da criança (CORDIER et al., 2015). Outro pesticida demonstrou perturbar o equilíbrio tireoidiano, o p,p'-DDE; mulheres expostas nos primeiros meses de gravidez demonstraram uma relação entre a exposição e a homeostasia da tireoide, através da avaliação da T3, T4 e TSH (HERNÁNDEZ-MARIANO et al., 2017).

Ratos tratados com OP e OC (Malathion e BHC) tiveram os níveis séricos de T3 e T4 reduzidos e um aumento na secreção de TSH. E o tratamento com inseticidas do grupo químico piretróide (lambda-cialotrina e bifentrina) levou a uma supressão semelhante de T3 e T4, com estímulo de TSH (AKHTAR et al., 1996). A vinclozolina influenciou na função reprodutiva e desenvolvimento da prole em um estudo transgeracional (F0 e F1), influenciando também no peso corporal, mas sem alterações nos níveis hormonais (MATSUURA et al., 2005).

No estudo onde se utilizaram diferentes gerações, as ratas receberam cinco doses de uma mistura fungicida (procimidona, mancozeb, epoxiconazol, tebuconazol

e procloraz) durante a prenhez e amamentação, a diferenciação sexual da prole foi afetada, uma vez que, a distância anogenital dos filhotes dos dois sexos esteve alterada e a prole masculina apresentou malformações do tubérculo genital, aumento da retenção do mamilo e diminuição dos pesos de próstata e epidídimo (JACOBSEN et al., 2010). E uma avaliação da ninhada, após exposição da geração anterior a baixas doses dos mesmos fungicidas, incluíram ainda: histopatologia da próstata alterada; aumento da densidade das glândulas mamárias; redução da contagem de esperma e diminuição da aprendizagem espacial. Vale ainda destacar que os resultados descritos foram apenas obtidos com a mistura dos fungicidas e não com a administração individual (HASS et al., 2012). Em outro estudo conduzido por Hass e colaboradores, uma mistura de seis pesticidas, com doses baixas, pareceu causar diminuição do peso ao nascer (HASS et al., 2017). E quando esses animais foram estudados, quanto ao desenvolvimento de obesidade, encontrou-se algumas alterações metabólicas, mas sem influência no peso (SVINGEN et al., 2018). Apesar de todos esses praguicidas utilizados, já terem sido reconhecidos como DEs, tais avaliações permitem uma discussão em torno do risco acumulativo e no desenvolvimento da prole (HASS et al., 2012; JACOBSEN et al., 2010).

Dentre os praguicidas, encontramos os piretroides, que pertencem a um grupo químico de inseticidas sintéticos com a estrutura baseada nas piretrinas, substâncias naturais encontradas nas flores de *Chrysanthemum*. Em um levantamento, os piretroides encontraram-se na sexta posição entre os ativos mais utilizados domesticamente, nos Estados Unidos em 2012 (USDA, 2012). Eles vêm tendo seus metabólitos detectados em amostras humanas e essas detecções, a níveis ambientais, relacionadas com alterações hormonais, reprodutivas e neurocomportamentais (SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015).

3.5. Piretroides

Os piretroides saíram do *status de* inseticidas domésticos para praguicidas utilizados na agricultura no início da década de 1970. As principais características dessas substâncias são: fotoestabilidade sem comprometer a biodegradabilidade; certa toxicidade aguda seletiva; degradação metabólica; potente inseticida com menor toxicidade em peixes e mamíferos; reduzida contaminação ambiental (CASIDA; QUISTAD, 1998; KOUREAS et al., 2012; US EPA, 2017). Os piretroides são divididos em dois grupos, dependendo dos seus efeitos neurológicos agudos em

roedores e a ausência (Tipo I) ou presença (Tipo II) de um grupo ciano no carbono da fração de álcool (ATSDR, 2003).

Sabe-se que os piretroides são metabolizados facilmente e têm absorção incompleta no trato gastrintestinal, o que se remete a uma baixa toxicidade aguda. Além disso, foram descritos como não irritantes por via cutânea e a toxicidade por inalação, bem como a toxicidade dérmica, são bastante baixas (MIYAMOTO, 1976). Apesar disso, os piretroides podem causar irritação, dor de cabeça, tonturas, náuseas e parestesias (BRADBERRY et al., 2005), entre outros efeitos, também sendo apontados como possíveis DEs (SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015). Um relato mostra o desenvolvimento de doença do neurônio motor (MND) com hipotireoidismo subclínico em paciente que manteve contato ocupacional com miprotrina, fenotorina, D-T80-resmetrina e D-T80-tetrametrina (todos piretroides) quase todos os dias durante três anos em uma sala não ventilada, após cessar o contato houve melhora do quadro clínico (DOI et al., 2006).

Os metabólitos encontrados por degradação ambiental podem ser idênticos aos marcadores urinários utilizados na biomonitorização humana (LIU et al., 2010), mostrando a similaridade entres os processos. Esses metabólitos são encontrados em amostras de urina, evidenciando a exposição doméstica alimentar, dérmica, respiratória, etc. (MORGAN, 2012). Além do uso agrícola e doméstico, essas substâncias desempenham um papel com alta utilização nos programas de saúde pública: mais de 520 toneladas de ativos piretroides são usados anualmente em programas de controle de pragas pelo mundo (ZAIM; JAMBULINGAM; WHO, 2004).

Recentemente analisaram-se as concentrações e a persistência de dois piretroides sintéticos, cipermetrina e β -ciflutrina, em uma casa simulada. Os piretroides foram aplicados unicamente no início do estudo e tiveram suas concentrações diminuídas entre 29,6% e 60,2% ao final do estudo, depois de 364 dias, o que preocupa, considerando um risco cumulativo e a constante aplicação dos produtos (NAKAGAWA et al., 2017).

No estudo feito por Dewailly E. et al., em 10 países caribenhos, indica-se extensivo uso de piretroides como a permetrina e a cipermetrina, com destaque também para a deltametrina em Antígua e Barbuda, através da detecção dos metabólitos em mulheres grávidas (cis-DBCA, cis-DCCA, trans-DCCA, 3-PBA, e 4-F-3-PBA) (DEWAILLY et al., 2014). Em estudo no Canadá, os principais metabólitos

observados na população em geral de região metropolitana também foram indicativos da exposição à *permetrina* e à *cipermetrina* (FORTIN et al., 2008).

O grupo químico em questão também é utilizado para desinsetização de aeronaves, até mesmo com caráter obrigatório (WHO et al., 2013); em análise dos metabólitos urinários dos comissários de bordo de várias aeronaves com diferentes destinos, resultou em carga elevada de 3-PBA, cis- e trans-CI2CA (WEI; MOHAN; WEISEL, 2012).

A exposição em diferentes grupos populacionais a substâncias comuns é importante e foi evidenciada expondo ratos com deficiência de iodo e/ou selênio ao piretroide fenvalerato, onde se observou elevação T3 em todos os grupos tratados, elevação também de T4 em parte dos grupos, além de uma elevação do TSH nos grupos com deficiência de iodo (GIRAY et al., 2010). Ainda considerando uma exposição múltipla, quando ratos foram expostos à cipermetrina (piretroide) e parathion (OP) os níveis de FSH e estradiol no soro de ratos expostos foram superiores aos do grupo controle, já na análise do TSH, os níveis aumentaram proporcionalmente com a elevação das doses dos praguicidas (LIU et al., 2006).

A cipermetrina mostrou ser disruptora do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG). A exposição do sétimo ao vigésimo primeiro dia de nascimento ao piretroide, em doses relevantes ao meio ambiente (0,5; 5 e 50 µg / kg), acelerou o início da puberdade em camundongos machos com o aumento dose-dependente nos níveis séricos de hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH) e testosterona (YE et al., 2017). O adiantamento da puberdade em machos geralmente ocorre como resultado do aumento da testosterona decorrente da resposta hipotalâmica e/ou hipofisária ou da ação direta no testículo (PARENT et al., 2015). Apesar da cipermetrina não afetar a expressão do gene do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), em doses relativamente altas (500 e 5000 µg/L), estimulou a frequência de pulso hipotalâmico para GnRH *in vitro* (YE et al., 2017).

Os níveis de três piretroides (λ -cialotrina, fenvalerato e permetrina), em concentrações ambientalmente relevantes (escala nanomolar) mostraram causar alterações no sistema endócrino do *zebrafish* (*Danio rerio*), através da diminuição dos níveis de T3 e da expressão dos receptores tireoidianos, TR α e TR β (ZHANG et al., 2017). A exposição aguda a outros piretroides (bifentrina ou λ -cialotrina) provocou bioconcentração e disrupção no eixo HPT nos embriões de *zebrafish* (TU et al., 2016).

Mostrou-se que o fenvalerato pode adiar a maturação sexual, reduzir comportamento sexual e alterar ciclo estral através da exposição perinatal, resultados atribuídos a um efeito antiestrogênico do fenvalerato durante os períodos críticos da organização sexual do cérebro feminino. Em contrapartida, não se observaram alterações nos hormônios avaliados (progesterona e estradiol) (MONIZ et al., 2005).

Os níveis do metabólito comum dos piretroides, o ácido 3-fenoxibenzoico (3-PBA), e a função tireoidiana de algumas populações não mostraram estar relacionados (JAIN, 2016). Assim como a exposição pré-natal a esses produtos mostrou não ter efeito sobre os HT das grávidas expostas (ZHANG et al., 2013) e de neonatos que tiveram as mães expostas a piretroides durante a gestação (ZHANG et al., 2014). Entretanto, observou-se relação entre os níveis dos metabólitos 3-PBA e *cis*-DCCA e uma série de déficits de funcionamento comportamental, dentre eles: depressão, problemas de conduta e inconstância (FURLONG et al., 2017; VIEL et al., 2017). Apesar de a atenção estar voltada para os piretroides (SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015), ainda há a necessidade de estudos para compreender e demonstrar a ação desses inseticidas na exposição crônica e em baixas concentrações, pois, estas, são limitadas e controversas (KOLACZINSKI; CURTIS, 2004; SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015).

Preocupando-se com a exposição a esses produtos, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) criou o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). De acordo com um dos relatórios das análises coletadas do PARA, em 2012, vinte e cinco por cento (25%) das amostras analisadas foram consideradas insatisfatórias (BRASIL, 2014). A ANVISA, é responsável, entre outras competências, pela avaliação e classificação toxicológica dos produtos agrotóxicos, obtidas através de estudos. Esses resultados são utilizados para calcular o parâmetro de segurança chamado Ingestão Diária Aceitável (IDA) (BRASIL, 2014). A seguir (tabela 1), demonstram-se valores de IDA para alguns piretroides comercializados no Brasil, de acordo com Monografias autorizadas, que são o resultado da avaliação e reavaliação toxicológica dos ingredientes ativos destinados ao uso agrícola, domissanitário, não agrícola, ambientes aquáticos e preservante de madeira (BRASIL, 2017).

Tabela 1 Piretroides com o item “Ingestão Diária Aceitável” disponível nas monografias autorizadas da sessão “Regularização de Produtos Agrotóxicos” do Portal ANVISA. A IDA é expressa em mg do agrotóxico por kg de peso corpóreo.

Ingrediente Ativo (IA)	IDA (mg/kgp.c.)
Cipermetrina	0,05
Permetrina	0,05
Fenpropatrina	0,03
Fenvalerato	0,02
Deltametrina	0,01

Dentre as amostras insatisfatórias, destacam-se as culturas de alface, com 186 amostras em desconformidade, incluindo a presença de deltametrina, praguicida não permitido neste tipo de alimento (BRASIL, 2014). Em 2016, o praguicida esteve em desconformidade nas culturas de banana, abacaxi, couve, entre outros (BRASIL, 2016). A deltametrina tem grande importância dentre os piretroides. O inseticida Decis 25 CE (deltametrina) foi identificado como o mais utilizado em um estudo realizado no município de Cachoeira de Macacu, no estado do Rio de Janeiro (CASTRO; CONFALONIERI, [s.d.]). Ela também teve seu metabólito específico, *cis*-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid (*cis*-DBCA) encontrado em altas concentrações em mulheres grávidas da Jamaica e de Antígua & Barbuda (BARR et al., 2010; DEWAILLY et al., 2014).

3.6. A deltametrina

Deltametrina é um inseticida piretroide, seu nome oficial IUPAC é (S)-ciano(3-Phenoxyphenyl)methyl(1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate e está dentre os ativos de produtos inseticidas mais populares e vendidos no mundo (HMDB, 2017). No contato agudo em humanos, a deltametrina (como as outras substâncias da classe) atua principalmente através da interrupção dos canais de sódio nos axônios e experimentalmente, em animais, os sintomas variam de hiperexcitabilidade e tremores de corpo inteiro a corearestesia e a salivação (MESTRES; MESTRES, 1992).

Quanto às características gerais, a deltametrina se mostra altamente lipossolúvel (KIM et al., 2007) e em ratos a meia-vida após administração

intravenosa é de 33 horas; no cérebro de ratos a meia-vida é de 1-2 dias e mais persistente na gordura corporal, com meia-vida de 5 dias (NIH, 2017). No ambiente a meia-vida média, é de 15,5 dias, para amostras ao ar livre, e 15,4 dias para ambientes internos (ORTIZ-PÉREZ et al., 2005).

Como praguicida, o nível de eficácia da deltametrina é alto e seu uso é efetivo, mesmo quando usado em baixas concentrações e com poucas aplicações. Somado a isso, essa substância é altamente aplicável em vários tipos de pragas, podendo assumir algum efeito sobre o homem, os alimentos e o meio ambiente (MESTRES; MESTRES, 1992). Uma série de piretroides e/ou a detecção de seus metabólitos vêm sendo relacionadas com alterações hormonais e/ou reprodutivas, mas existem poucos estudos explorando esses efeitos da deltametrina (ANDRADE et al., 2002; SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015).

De acordo com um dos relatórios das análises coletadas do PARA, em 2012, 25 % das amostras analisadas foram consideradas insatisfatórias, destacando-se as culturas de alface com 186 amostras insatisfatórias, incluindo a presença de deltametrina, praguicida não permitido neste tipo de alimento (BRASIL, 2014). O relatório do PARA, publicado em novembro de 2016, acusou detecções com a presença de deltametrina acima do limite máximo de resíduo (LMR); de um total de 10.149 amostras houve 189 detecções, entre os produtos pode-se citar banana, mamão, tomate, morango, entre outros (BRASIL, 2016).

Na década de 1990, no Brasil, a Portaria SVS/MS Nº 3 de 16/01/1992 alterou as regras de classificação toxicológica, buscando se adequar aos padrões internacionais. Esta alteração reduziu a classificação toxicológica de muitos produtos, entre eles o piretroides deltametrina (anteriormente dentro da classe II e, agora, na classe III) (BRASIL, 1992). A mudança pode ter gerado a impressão de que esses produtos tiveram a toxicidade diminuída (FARIA; FASSA; FACCHINI, 2007).

Quanto à genotoxicidade, a deltametrina parece não causar esse tipo de efeito tóxico em humanos, segundo avaliação de crianças expostas (ORTIZ-PÉREZ et al., 2005). Contudo, um potencial genotóxico não-fraco *in vivo* da deltametrina foi demonstrado em células germinativas em camundongos albinos suíços (SHUKLA; TANEJA, 2000).

No estudo da carcinogenicidade em ratos e camundongos, observou-se aumento da incidência de tumores tireoidianos, sem relação dose-resposta clara

(CABRAL et al., 1990). Entretanto, segundo a Agência Internacional de pesquisa sobre câncer (IARC), a deltametrina é não classificável quanto à sua carcinogenicidade para os seres humanos (WHO, 2017).

Alguns piretroides ou seus metabólitos parecem causar alterações comportamentais em vários níveis (FURLONG et al., 2017; SAILLENFAIT; NDIAYE; SABATÉ, 2015; VIEL et al., 2017), já a deltametrina demonstrou especificamente déficits neuroquímicos e comportamentais em ratos expostos a 7.0 mg/kg da substância entre o 22º e 37º dia, demonstrados através das dosagens de poliaminas e testes de locomoção espontânea, agressividade e aprendizagem (HUSAIN et al., 1994). A deltametrina também demonstrou provocar alterações no sistema imunológico, (KUMAR; SASMAL; SHARMA, 2015), no sistema respiratório (ERDOGAN et al., 2006), nos cromossomos (EUA, 2003), mas pouco se sabe sobre seus efeitos na função endócrina.

Alguns efeitos reprodutivos sutis foram observados em filhotes de ratas tratadas com deltametrina, do primeiro dia de prenhez ao último dia de lactação; os efeitos consistiram em alterações dos pesos testiculares, alterações dos pesos epididimários e diâmetro dos túbulos seminíferos nos grupos tratados com a maior dose (ANDRADE et al., 2002). Já uma exposição de 5 mg/kg de deltametrina diários durante 35 dias afetou a produção de espermatozoides, prejudicou a libido, diminuiu os níveis de testosterona e inibina B, além de afetar o desempenho reprodutivo (BEN SLIMA et al., 2017).

Quanto à função neuroendócrina, a administração intravenosa de doses baixas de deltametrina causou elevação de corticosterona plasmática, que pode ser utilizado como índice de atividade adrenocortical da hipófise, portanto um índice bioquímico mais sensível para neurotoxicidade (DE BOER et al., 1988). Em estudo com ratos albinos, a deltametrina mostrou toxicidade em nível de tireoide, onde na técnica histoquímica PAS (ácido periódico-Schiff), o grupo tratado com deltametrina (2 mg/kg peso) mostrou uma diminuição da reação do PAS no colóide, o que deve-se a expressão local de tireoglobulina afetada (ABDUL-HAMID; SALAH, 2013).

Além de todas as alterações demonstradas, a capacidade de modificar a expressão gênica, a exposição materna a estes produtos deve ser considerada. Estudos com ratos mostram a possibilidade da transmissão de alterações genéticas não apenas na prole, mas também, nas gerações seguintes (MANIKKAM et al., 2012).

3.7. Herança trans e multigeracional

Os seres vivos, em geral, estão expostos a ameaças que podem desestabilizar o seu genoma e/ou epigenoma. Essas ameaças consistem em produtos químicos, patógenos, suplementos nutricionais, entre outros que causam alterações na expressão gênica, podendo persistir ou serem transmitidas para as gerações seguintes (DAXINGER; WHITELOW, 2010). A epigenética refere-se a todas as mudanças reversíveis e herdáveis no genoma que não alteram a sequência de nucleotídeos do DNA, mas podem modificar o funcionamento e a expressão genética e esse fatores podem se tornar hereditários (HEARD; MARTIENSSEN, 2014). A exposição pré-natal a tóxicos ambientais, como os DEs, pode alterar a diferenciação das células germinativas primordiais (PGCs), que é iniciada durante o desenvolvimento fetal, e induzir transtornos epigenéticos transgeracionais (SAITOU; YAMAJI, 2012; STOUDEER; PAOLONI-GIACOBINO, 2010).

Quando investigada a capacidade de alguns produtos e misturas de promover a doença transgeracional epigenética, como um pré-delineamento para estudos toxicológicos mais específicos, pôde-se entender que a geração F1 envolve a exposição direta e a geração F3 é germinativa, e assim os fenótipos podem diferir entre as gerações. Além de considerar o modo de administração e dose, a janela para promover o fenótipo transgeracional epigenético é durante determinação do sexo gonadal, que para o ser humano é entre a 6ª e a 18ª semana de gestação. As gestantes nesse período seriam a população mais sensível às exposições de herança transgeracional epigenética (MANIKKAM et al., 2012).

Ao analisar a obesidade como efeito do DDT em um estudo transgeracional, F0 (exposta diretamente), F1 (exposta via uterina) e F2 não desenvolveram obesidade, apesar das alterações como doença renal, prostática e tumor, geração F3 foi a qual apresentou mais de 50% dos animais desenvolvendo obesidade. Também foram identificadas epimutações no esperma e regiões com metilação de DNA, nos animais da F3 (SKINNER et al., 2013).

Em estudo feito por Anway e colaboradores, expuseram-se ratas entre o 8º e 15º dia de gestação (período de determinação do sexo gonadal) aos DEs vinclozolina (antiandrogênico) ou metoxicloro (estrogênico). O tratamento causou diminuição na contagem de espermatozoides e viabilidade reduzida de F1; essas características fenotípicas foram transferidas através da linha germinal masculina

para a maioria dos animais das gerações seguintes (F2, F3 e F4). Mostrou-se a capacidade do tratamento com os DEs, de induzir um fenótipo epigenético de uma geração para as seguintes pela aparente reprogramação da linha germinativa masculina, correlacionando-se com padrões de metilação alterados do DNA nessa linha germinativa (ANWAY et al., 2005).

Metilação genética é um dos principais mecanismos de alterações epigenéticas. Apenas uma metilação em um gene não é suficiente para promover um fenótipo, entretanto pode causar alterações em um subconjunto de genes e uma consequente alteração fenotípica (ANWAY et al., 2005; HEARD; MARTIENSSEN, 2014). A metilação do DNA também está relacionada normalmente ao silenciamento de genes (BENDER, 2004). Temos ainda as modificações de histonas, que formam o que chamamos de código de histonas determinando a conformação da cromatina, dependendo do resíduo que ocorrer essa modificação, o efeito pode ser um ou outro (BENDER, 2004; HEARD; MARTIENSSEN, 2014).

Com relação à tireoide, essa herança epigenética pode ser abordada através da enzima D3 e seu gene Dio3. A administração de altas doses de T4 em ratos neonatos leva a fenômenos de crescimento e alterações no eixo HPT quando adultos; esses efeitos podem ser transmitidos para mais duas gerações através da linhagem paterna, demonstrando que o grau de exposição aos hormônios tireoidianos pode produzir efeitos epigenéticos transgeracionais. Isso reforça a possibilidade de que as alterações na impressão genômica de Dio3 possam fazer o mesmo. Apesar da não expressão em muitos tecidos, mudanças no desenvolvimento podem estar ligados a uma dosagem alterada de Dio3 (CHARALAMBOUS; HERNANDEZ, 2013).

Os efeitos dos DEs nas programações causadas por alguma alteração epigenética, durante o desenvolvimento, vêm se mostrando importantes (SKINNER, 2014). Apesar da exposição a substâncias químicas não se resumir apenas em DE, esses compostos são de alta relevância, considerando o número de perguntas sem respostas, a gama de produtos não avaliados e a possível relação com a herança epigenética através das gerações (SKINNER, 2015).

4 CAPÍTULO: ARTIGO ORIGINAL**REDUÇÃO DE PESO AO NASCER EM TRANSGERAÇÕES
DE RATAS EXPOSTAS À DELTAMETRINA**

1 Redução de peso ao nascer em transgerações de ratas expostas à deltametrina

2
3 Julio Cezar dos Santos¹, Angélica Reolon¹, Carla Brugin Marek ², Ana Maria Itinose³, Sara Cristina
4 Sagae Schneider⁴, Fernando Marques Salles⁵, Fabiano Sandrini^{3*}

5
6
7 ¹ Programa de Pós-graduação Strictu sensu em Ciências farmacêuticas, Universidade Estadual do
8 Oeste do Paraná, Cascavel, Brasil.

9 ² Laboratório de Toxicologia Celular, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Brasil.

10 ³ Centro de Assistência em Toxicologia, Hospital Universitário do Oeste do Paraná, Cascavel,
11 Brasil.

12 ⁴ Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
13 Cascavel, Brasil.

14 ⁵ Biotério Central, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Brasil.

15
16
17 *Autor correspondente: Fabiano Sandrini, Laboratório de Toxicologia Celular, Universidade
18 Estadual do Oeste do Paraná, Rua Universitária 1619, 85819110, Cascavel, Brasil
19 Tel/Fax +55 45 3321-5429; E-mail: fabiano.sandrini@unioeste.br

20
21
22 RNBP em transgerações de ratas exp DLM

23 Palavras-chave: Low Birth Weight, Deltamethrin, Inheritance, Maternal Exposure, Offspring

24
25
26 3.529 palavras

27 **Artigo Original**

Redução de peso ao nascer em gerações de ratas expostas à *deltametrina*

28

29

30 **Resumo**

31

32 **Objetivos:** O presente estudo avaliou as possíveis ações disruptoras da *deltametrina* sobre a
33 função hipofisária e alterações no desenvolvimento em transgerações de ratos. **Materiais e**
34 **métodos:** Foram utilizadas 4 ratas adultas (geração Parental ou F0), prenhes da linhagem
35 Wistar, as quais foram divididas em dois grupos: Tratamento e Controle. O grupo *tratamento*
36 recebeu uma injeção intraperitoneal diária de *deltametrina* na concentração de 0,01 mg.kg⁻¹ de
37 peso corpóreo entre o 8^o e 14^o dia de prenhez; o grupo *controle* recebeu óleo de canola. As
38 gerações seguintes (F1 e F2) não receberam tratamento e foram avaliadas quanto ao crescimento
39 e desenvolvimento, por meio do peso ao nascer, índice de *Lee* e peso na eutanásia. Após a
40 eutanásia, a glândula hipófise foi isolada e pesada. **Resultados:** Foi observada uma correlação
41 positiva entre variação de peso ao longo da prenhez e o número de filhotes nascidos. Não houve
42 diferença entre os grupos *tratamento* e *controle*, no peso do nascimento dos ratos da primeira
43 geração (F1). O peso de nascimento dos ratos da 2^a geração (F2), oriundos das ratas tratadas,
44 foi menor comparado ao peso daqueles oriundos de ratas *controle*. Ao avaliar o peso, o índice de
45 *Lee* e o peso da hipófise na eutanásia, não houve diferenças estatísticas entre *controle* e
46 *tratamento*. As fêmeas apresentaram hipófises maiores, se comparadas com os machos.
47 **Conclusão:** Concluímos que a *deltametrina* interfere no peso de nascimento dos ratos e essa
48 interferência obedece a um padrão transgeracional de implicação clínica.

49 INTRODUÇÃO

50 No Brasil, recentemente, houve considerável destaque a cerca de doenças transmitidas
51 por insetos (zika, dengue, chikungunya e febre amarela) sendo que, muitas vezes, até sugerido o
52 uso de inseticidas para a proteção das gestantes (1–3). Desde 1970, os piretroides já vinham
53 sendo utilizados como inseticidas domésticos, pela baixa toxicidade aguda conferida a esses
54 produtos (4). Entretanto, a partir de 1985, com a proibição dos organoclorados (5), a utilização dos
55 piretroides também se acentuou na agricultura e saúde pública (4). Contudo, os piretroides têm
56 sido nominados como possíveis disruptores endócrinos (DE) (6).

57 Os piretroides são muito utilizados no combate à insetos em diversas formulações, por isso
58 são encontrados em vários tipos de ambiente; o que permite o contato não profissional, bem como
59 o uso indiscriminado, sem os devidos cuidados e precauções (7). Além do uso agrícola e
60 doméstico, o grupo químico desempenha um papel com alta utilização nos programas de saúde
61 pública: mais de 520 toneladas de ativos piretroides são usadas anualmente em programas de
62 controle de pragas pelo mundo (8).

63 Das doze formulações indicadas como larvicidas, nas Diretrizes Nacionais para a
64 Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue, nove delas contêm um piretroide como princípio
65 ativo, dentre essas, duas utilizando a *deltametrina* (9). A *deltametrina* é um dos ativos de produtos
66 inseticidas mais populares e vendidos no mundo, e seu nome oficial IUPAC é (S)-cyano(3-
67 Phenoxyphenyl)methyl(1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2dimethylcyclopropanecarboxylate (10).
68 Sua ação ocorre principalmente através da interrupção dos canais de sódio nos axônios e os
69 sintomas da intoxicação aguda variam de hiperexcitabilidade e tremores de corpo inteiro, a
70 corearestesia e a salivação; mas pouco se sabe sobre a exposição humana a baixas doses (11).

71 Apesar da exposição generalizada aos piretroides ser demonstrada por meio da detecção
72 dos metabólitos específicos em várias populações, há poucos estudos que exploram os efeitos da
73 *deltametrina* (6,12–14). Quanto à genotoxicidade, a *deltametrina* pareceu não causá-la em
74 humanos, quando avaliou-se crianças expostas (15). Contudo, um potencial genotóxico não-fraco
75 *in vivo* da *deltametrina* foi demonstrado em células germinativas em camundongos albinos suíços
76 (16).

77 Alguns inseticidas vêm sendo apontados como DEs, além de todas as alterações - as
78 quais a exposição a esses produtos demonstrou (17) - a capacidade de modificar a expressão
79 gênica e exposição materna a estes produtos deve ser considerada. O crescimento hiperplásico
80 no ganho de peso acontece quando o feto está vulnerável à interferência de fatores, às quais a
81 gestante é exposta (18). Esses fatos reforçam a necessidade de analisar as consequências da
82 exposição crônica a baixas doses de xenobióticos, em especial durante a vida uterina (19).

83 Estudos com animais mostram a possibilidade da transmissão de alterações genéticas,
84 não apenas na prole, mas também, nas gerações seguintes (17). Alterações que podem ser
85 causadas por produtos químicos, patógenos, suplementos nutricionais, entre outros, que causam
86 alterações na expressão gênica (20). Os DEs podem alterar a diferenciação das células
87 germinativas primordiais (PGCs) - que é iniciada durante o desenvolvimento fetal - e induzir
88 transtornos epigenéticos transgeracionais. Apesar da exposição a substâncias químicas não se
89 resumir apenas em DE, esses compostos são de alta relevância, considerando o número de
90 perguntas sem respostas, a gama de produtos não avaliados e a possível relação com a herança
91 epigenética através das gerações (17).

92 A investigação da possível ação da *deltametrina* sobre o desenvolvimento se faz
93 importante pelo caráter inédito e, aliado a isso, tem-se o conjunto de consequências as quais
94 alterações endócrinas podem causar durante a gravidez e a possibilidade da transmissão de
95 alterações genéticas nas gerações seguintes. Para isso, avaliamos o ganho de peso durante
96 prenhez da geração F1, o peso das proles (F1 e F2) no nascimento, o peso dos animais e índice
97 de Lee na eutanásia, além do peso relativo da glândula hipófise nas proles.

98 **MATERIAIS E MÉTODOS**

99 **Animais**

100 Foram utilizados seis ratos adultos, sendo dois machos e quatro fêmeas, não
101 consanguíneos, albinos da linhagem Wistar, pesando aproximadamente 250 g; fornecidos pelo
102 Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Os animais foram
103 mantidos em caixas de polipropileno, contendo cada uma, quatro animais, no máximo; a $22^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C
104 em ciclo claro-escuro de 12 horas e exaustão de ar no Biotério Setorial do Laboratório de
105 Toxicologia Celular da UNIOESTE. Os ratos foram alimentados *ad libitum* com dieta padrão de
106 laboratório (Biobase[®]) e água potável durante todo o período de experimento. Todos os
107 procedimentos experimentais seguiram protocolo avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no
108 Uso de Animais da UNIOESTE (CEUA/UNIOESTE).

109

110 **Procedimento experimental**

111 ***Geração Parental (F0)***

112 Os animais foram identificados como geração Parental ou F0 (fêmeas e machos do 1^o
113 acasalamento). Após o período de adaptação, os animais foram colocados para o acasalamento,
114 na proporção 2:1 (duas ratas fêmeas para um rato macho). No dia seguinte, no período da manhã,
115 foram realizados lavados vaginais para verificar a presença de espermatozoides, os quais, se
116 presentes, indicariam o dia 0 (zero) de prenhez e, para confirmar a prenhez, as ratas foram
117 submetidas ao exame de ultrassonografia em um hospital veterinário. As ratas prenhes foram
118 separadas dos machos e divididas em dois grupos: tratamento (FT1, FT2) e controle (FC1, FC2).
119 Cada rata tratada recebeu, do 8^o ao 14^o dia de prenhez, uma injeção intraperitoneal diária de
120 *deltametrina* (Chem Service, Inc.) na concentração de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ de peso corpóreo, dissolvida
121 em óleo de canola e, no grupo controle, foi administrado óleo de canola na mesma proporção e no
122 mesmo período de prenhez. O dia do parto foi considerado como dia 0 (zero), e o desmame da
123 ninhada (geração F1) foi realizado com 21 dias de vida. Após o desmame, foi realizado no
124 período da manhã, o lavado vaginal nas ratas da geração F0 para verificar a fase do ciclo estral e
125 realizar a eutanásia na fase proestro; Já os ratos machos sofreram eutanásia após o nascimento

126 dos filhotes. Na eutanásia foram utilizados Cloridrato de Ketamina (Dopalen: Ceva, Brasil) e
127 cloridrato de xilazina (Anasedan: Vetbrands, Brasil).

128

129 ***Primeira geração (F1 - prole da geração F0)***

130 No dia que sucedeu cada parto (dia 1), foi realizada a padronização de todas as ninhadas
131 para o número de 10 filhotes. Os animais foram pesados nos primeiros sete dias consecutivos e
132 avaliados, macroscopicamente, quanto a malformações externas. Aos 41 dias de vida, foi
133 realizada a diferenciação sexual de todos os animais; e aos 70 e 76 dias após o nascimento, os
134 animais foram colocados para acasalamento na seguinte composição: prole da FT1 com prole da
135 FT2; prole da FC1 com prole da FC2, na proporção 1:1 (uma rata fêmea para um rato macho). No
136 dia seguinte, de forma semelhante ao descrito na F0, no período da manhã, foram realizados
137 lavados vaginais para verificar a presença de espermatozoides, os quais indicaram o dia 0 (zero)
138 de prenhez. Essa geração não recebeu nenhum tipo de tratamento. Todas as ratas prenhas foram
139 pesadas, medidas e observadas diariamente. O dia do parto foi considerado como dia 0 (zero), e
140 o desmame da ninhada (geração F2) foi realizada com 21 dias de vida. Após o desmame, no
141 período da manhã, foi realizado o lavado vaginal nas ratas da geração F1 para verificar a fase do
142 ciclo estral e realizar a eutanásia na fase proestro; e os ratos machos sofreram a eutanásia após o
143 nascimento dos filhotes.

144

145 ***Segunda geração (F2 - prole da geração F1)***

146 No dia que sucedeu cada parto (dia 1), foi realizada a padronização de todas as ninhadas
147 para o número de sete filhotes. Os animais foram pesados nos primeiros sete dias consecutivos e
148 avaliados macroscopicamente quanto a malformações externas. Aos 41 dias de vida foi realizada
149 a diferenciação sexual de todos os animais, após 70 dias de vida, sofreram eutanásia. Esta
150 geração não recebeu nenhum tipo de tratamento e não gerou prole.

151

152 Lavado vaginal

153 Para analisar a presença de espermatozoides e a citologia vaginal, foi obtido um lavado
154 com aproximadamente 0,5 mL de solução salina 0,9%, após enxague do local por duas ou três
155 vezes. Em seguida, a amostra coletada foi analisada em microscópio óptico Bel® Photonics BIO2
156 para verificar a presença de espermatozoides, os quais, se presentes, indicariam o dia 0 (zero) de
157 prenhez e para realizar a eutanásia foi avaliado os diferentes tipos de células presentes no lavado
158 vaginal para a identificação da fase de proestro do ciclo estral.

159

160 Medidas antropométricas

161 Para a avaliação do desenvolvimento, todos os animais foram pesados e aferidos quanto
162 ao comprimento nasoanal (CNA). A balança utilizada foi da empresa Marte® modelo AL500 (500
163 g/ 0,001 g). O CNA foi obtido com fita métrica, medindo-se da ponta do nariz ao início do ânus,
164 com o animal em decúbito dorsal no momento da eutanásia. Através das medidas
165 antropométricas mensurou-se o índice de Lee, que é a razão entre a raiz cúbica do peso (g) e o
166 CNA (cm) multiplicada por 1000 (21).

167

168 Padronização das proles das gerações F0 e F1

169 A padronização das ninhadas foi realizada no dia que sucedeu o parto (dia 1) e nenhuma
170 manipulação foi realizada no dia do parto (dia 0) para minimizar a interferência no comportamento
171 materno com os filhotes. Após a verificação do número total de filhotes e a relação entre machos e
172 fêmeas, foi realizada a padronização por decapitação de forma aleatória, respeitando a proporção
173 entre machos e fêmeas, obtendo um número final de dez filhotes na prole da geração F0 e sete
174 filhotes na prole da geração F1.

175

176 Isolamento e pesagem da hipófise

177 Após a eutanásia, a cabeça foi removida para abertura do crânio e isolamento da hipófise,
178 seguidos da pesagem da glândula. A balança analítica utilizada foi da marca Gehaka®, modelo
179 AG200 (199,9990 g/ 0,0001 g). O peso relativo da hipófise foi calculado pela razão entre o peso

180 absoluto da glândula e o peso corporal final do animal e os resultados foram expressos em
181 gramas/100 gramas de peso vivo (g/100g p.v.).

182

183 **Análise Estatística**

184 Para verificar a interferência da exposição à *deltametrina*, em relação ao desenvolvimento,
185 os dados das variáveis analisadas foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel®.

186 Para avaliar a frequência de filhotes nascidos na primeira (F1) e segunda (F2) gerações de pais
187 expostos a *deltametrina* (Tratamento) e pais não expostos (Controle), foi aplicado o teste de Qui
188 Quadrado para Independência, assumindo um nível de significância equivalente a 5%.

189 Para cada rata prenha dos grupos Controle e Tratamento, foi avaliada a variação de peso
190 ao longo da prenhez, e correlacionado ao respectivo número de filhotes nascidos. Esta avaliação foi
191 realizada por meio da análise de correlação de Pearson, e a significância avaliada por meio do
192 teste t para correlação. A demonstração gráfica foi realizada por intermédio do diagrama de
193 dispersão.

194 Para comparar os grupos tratamento e controle, já padronizados (F1: 10 fêmeas e 10 machos; F2:
195 77 fêmeas e 56 machos) - quanto ao ganho de peso na prenhez na primeira geração de filhotes –
196 primeiramente, realizou-se a avaliação dos pressupostos de normalidade e homocedasticidade
197 (teste de Shapiro-Wilk e teste Levene, respectivamente). Uma vez que, os dados se encontravam
198 em acordo com tais pressupostos, utilizou-se o teste ANOVA fatorial para medidas repetidas,
199 utilizando 5% de significância.

200 Já para analisar as variáveis: peso no nascimento; peso na eutanásia; índice de Lee na
201 eutanásia e peso relativo à hipófise - considerando os fatores geração, sexo e grupo - foi
202 realizada, para cada variável, a Análise de Variância fator triplo (ANOVA-three way) para verificar
203 se existe significância estatística; isto é, se tais fatores exercem influência sobre a variável
204 resposta. Foi também realizado o teste de acompanhamento de LSD-Fisher para a comparação
205 entre os fatores e interação destes mesmos ($\alpha=5\%$).

206 Todas as análises foram realizadas no programa Statistica 7.0 (22).

207 **RESULTADOS**208 **Caracterização geral do número de filhotes**

209 No início do experimento, o grupo de ratos parentais consistiu em 2 fêmeas que foram
 210 expostas a *deltametrina*, 2 fêmeas que não foram expostas (controle) e 2 machos não expostos.
 211 Foi possível verificar que, na primeira e na segunda gerações (F1 e F2), houve homogeneidade
 212 na distribuição das frequências de filhotes fêmeas e machos, nos grupos Controle e Tratamento
 213 ($\chi^2=0,72$, $p=0,396$; $\chi^2=0,031$; $p=0,861$, respectivamente) (tabela 1).

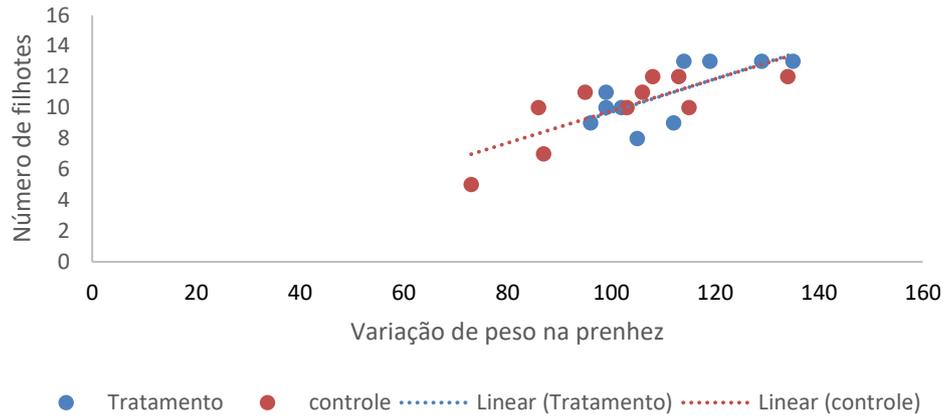
214 Tabela 1. Frequências absoluta e relativa (%) de filhotes fêmeas e machos na primeira (F1) e
 215 segunda (F2) gerações dos grupos Controle e Tratamento. P-valor do teste de Qui Quadrado para
 216 Independência.

Geração	Sexo	Controle	Tratamento	p-valor
F1	Fêmea	14 (56%)	11 (44%)	0,396
	Macho	11 (44%)	14 (56%)	
F2	Fêmea	52 (52%)	58 (53%)	0,861
	Macho	48 (48%)	51 (47%)	

217

218 **Relação entre variação de peso ao longo da prenhez e número de filhotes nascidos**

219 Foi possível verificar que, tanto o grupo Controle, como o grupo Tratamento, apresentaram
 220 correlação positiva entre a variação de peso ao longo da prenhez e o número de filhotes nascidos
 221 (Controle: $r=0,786$, $p=0,007$; Tratamento: $r=0,731$. $P=0,016$). Sendo assim, é possível afirmar que,
 222 em ambos os grupos, quanto maior a variação de peso das fêmeas ao longo da prenhez, maior
 223 era o número de filhotes gestados (figura 2).



224
225 Figura 1. Diagrama de dispersão relativo à variação de peso ao longo da prenhez e número de
226 filhotes nos grupos Controle e Tratamento.

227

228 Ganho de peso na prenhez nas ratas da primeira geração

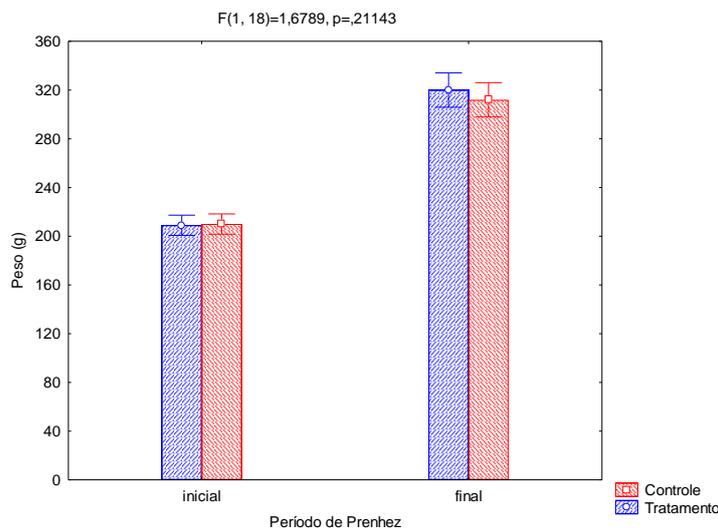
229 Considerando as 20 observações, sendo 10 fêmeas do grupo controle e 10 do grupo em
230 que os parentais foram expostos à *deltametrina*, verificou-se que não houve diferenças
231 estatísticas significativas do peso ao longo da prenhez entre os grupos ($F_{1, 18}=1,68$; $p=0,211$). Ou
232 seja, em ambos os grupos, as ratas apresentaram variação de peso equivalente ao longo da
233 gestação (tabela 2; figura 3).

234 Tabela 2. Valores das estatísticas descritivas das variáveis quantitativas relacionadas ao ganho de
235 peso na prenhez. P-valor da ANOVA fatorial para medidas repetidas.

Estatística	Peso início da prenhez	Peso final da prenhez	F	p-valor
Controle	210,0±16,7 ^{aA}	312,0±25,6 ^{Ba}	1,679	0,211
Tratamento	209,0±5,7 ^{aA}	320,0±15,5 ^{bA}		

236 * Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os tempos inicial
237 e final de prenhez. Letras maiúsculas indicam a comparação entre os grupos.

238



239
240 Figura 2. Médias (IC95%) do peso nos períodos inicial e final da prenhez em ratas da primeira
241 geração do grupo Controle e Tratamento.
242

243 Variáveis relativas aos filhotes de acordo com a interação dos grupos, geração e sexo

244 Foi possível verificar que não houve diferença significativa do peso dos filhotes ao nascer,
245 quando considerada a interação dos fatores grupos, geração e sexo ($F_{1, 165}=0,067$; $p=0,797$).
246 Contudo, ao avaliar as demais interações dos fatores, foi possível observar a significância
247 estatística quando se considerou a interação de Grupo x Geração ($F_{1, 165}=24,42$; $p<0,0001$),
248 indicando que os filhotes nascidos na 2ª geração (F2), oriundos do grupo Tratamento,
249 apresentaram pesos menores, em relação aos nascidos em F1 (tabela 3; figura 4A).

250 Ao avaliar o peso no momento da eutanásia, verificou-se que não houve diferenças
251 estatísticas quando considerada a interação dos fatores em análise ($F_{1, 165}=1,63$; $p=0,204$).
252 Avaliando-se os fatores isoladamente, foi verificado o efeito apenas em relação ao sexo, sendo
253 que, ratos do sexo masculino foram significativamente mais pesados do que as do sexo feminino,
254 independente da geração e independente do grupo (tabela 3; figura 4B).

255 Avaliando-se a variável Índice de Lee no momento da eutanásia, foi verificado que não
256 houve diferenças estatísticas na interação dos fatores em análise ($F_{1, 165}=0,27$; $p=0,607$). Na
257 análise dos fatores isolados, foi verificada a significância estatística para os fatores Geração ($F_{1, 165}=5,7$;
258 $p=0,018$) e Sexo ($F_{1, 165}=43,3$; $p<0,0001$), porém, sem haver interação entre os mesmos. Desta
259 forma, é possível interpretar que os animais nascidos em F2 apresentaram menor índice de Lee
260 no momento da eutanásia, porém, independente do grupo e do sexo. Além disso, verificou-se que

261 os machos, independentemente da geração e do grupo, apresentaram menores valores de índice
262 de Lee no momento da eutanásia (tabela 3; figura 4C).

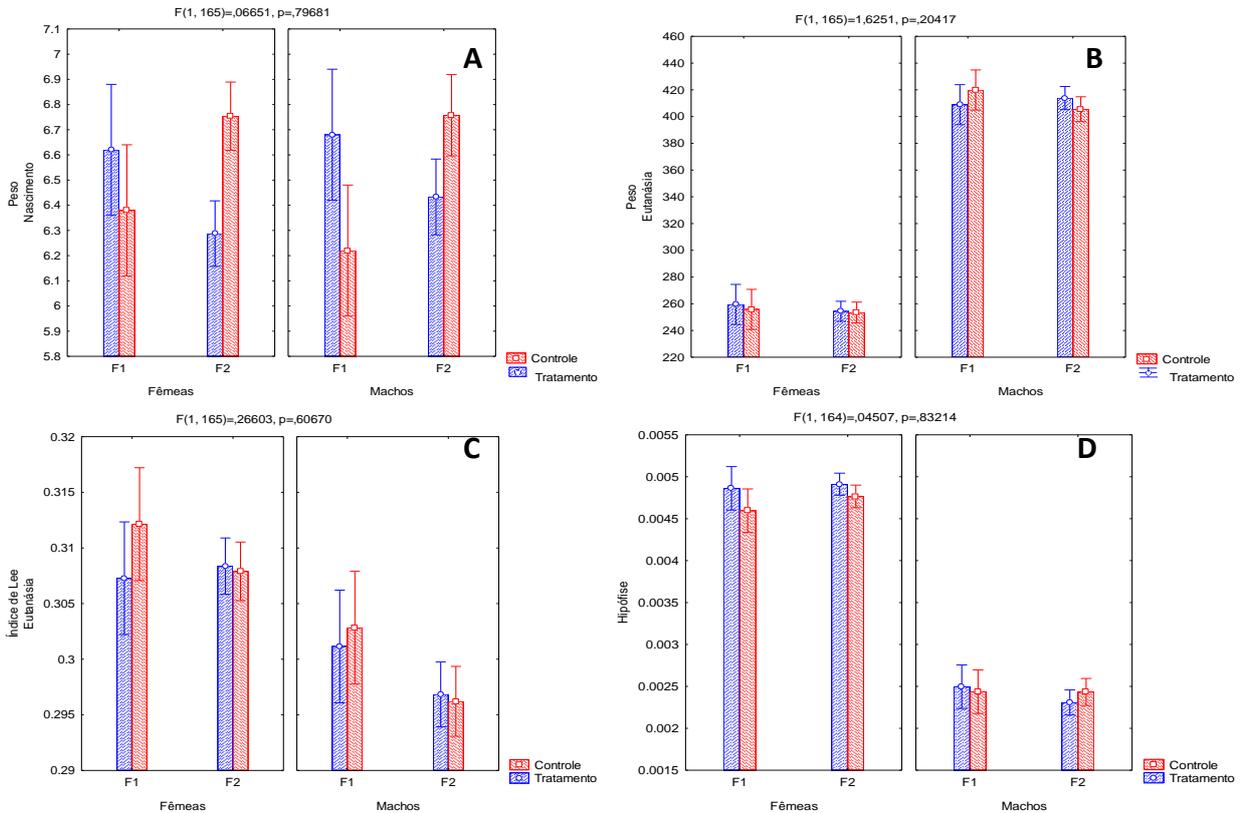
263 Em relação à variável peso da hipófise, foi possível verificar que não houve diferenças
264 estatísticas significativas na interação dos fatores analisados ($F_{1, 164}=0,045$; $p=0,832$). Na análise
265 dos fatores isolados, foi verificado que o fator sexo promove efeito sobre esta variável ($F_1=988,3$;
266 $p<0,0001$), sendo que machos apresentaram, significativamente, menores pesos, quando
267 comparados às fêmeas, independentemente do grupo e/ou geração (tabela 3; figura 4D).

268 Tabela 3. Médias das variáveis Peso ao nascimento, Peso na eutanásia, Índice de Lee, Peso da
 269 hipófise em relação aos grupos (Controle e Tratamento), Geração (F1 e F2) e Sexo (Fêmea e
 270 Macho). P-valor da ANOVA fator triplo.

Grupo	Geração	Sexo	n	Peso nascimento	Peso Eutanásia	Índice de Lee	Hipófise
C	F1	Fêmea	10	6,38 ^{bc}	255,80 ^b	0,312 ^a	0,005 ^a
		Macho	10	6,22 ^c	419,90 ^a	0,303 ^{bc}	0,002 ^b
	F2	Fêmea	37	6,75 ^a	253,49 ^b	0,308 ^{ab}	0,005 ^a
		Macho	26	6,76 ^a	405,58 ^a	0,296 ^d	0,002 ^b
T	F1	Fêmea	10	6,62 ^{ab}	259,50 ^b	0,307 ^{abc}	0,005 ^a
		Macho	10	6,68 ^{ab}	408,90 ^a	0,301 ^{cd}	0,002 ^b
	F2	Fêmea	40	6,29 ^c	254,35 ^b	0,308 ^{ab}	0,005 ^a
		Macho	30	6,43 ^{bc}	413,87 ^a	0,297 ^d	0,002 ^b
p-valor de interação de fatores				0,797	0,204	0,607	0,832

271 Letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre a interação dos grupos, geração e sexo.

272



273

274

275 Figura 3. Médias (IC95%) dos filhotes dos grupos Controle e Tratamento, das gerações F1 e F2,
 276 dos sexos feminino e masculino. A) Peso ao nascimento; B) Peso na eutanásia; C) Índice de Lee
 277 na eutanásia; D) Peso da Hipófise.

278 DISCUSSÃO

279 Tanto quanto sabemos, este foi o primeiro estudo que investigou uma ação transgeracional
280 da *deltametrina* sobre o desenvolvimento/crescimento das gerações seguintes.

281 Observou-se que a *deltametrina* não influenciou no ganho de peso durante a prenhez e/ou
282 desenvolvimento dos ratos. Já *Sangha* (23), observou um aumento de peso nas ratas expostas à
283 *deltametrina*, somente na primeira semana de prenhez, sendo que, na evolução houve paridade
284 dos pesos até se igualarem ao controle na terceira semana.

285 Não observou-se interferência da *deltametrina* no peso dos ratos da geração subsequente
286 à exposição (F1). Em estudo em humanos, *Mayhoub* e colaboradores também não observaram
287 relação entre a exposição a praguicidas domésticos e o baixo peso ao nascer. (24).

288 Diferente de estudos realizados com humanos, em Tóquio, onde foi observada uma
289 correlação positiva entre a concentração do metabólito comum dos piretroides, ácido 3-
290 fenoxibenzoico (3-PBA), na urina materna no primeiro trimestre de gestação e o peso dos
291 neonatos (25). Em outro estudo, também houve uma correlação positiva da exposição a
292 piretroides durante a gravidez com o peso de crianças aos 18 meses de idade (26).

293 Quando metabólitos de outros praguicidas foram considerados, foi observada uma
294 correlação inversa entre os níveis séricos dos metabólitos de organoclorados p, p'-DDE, β -BHC e
295 HCB, no cordão umbilical, e o peso de nascimento das crianças (27). Ainda, em um estudo que
296 detectou a *atrazina* em água potável consumida por gestantes, foi constatado um aumento
297 significativo na prevalência de neonatos pequenos (28). *Hass* e colaboradores (29), expuseram
298 ratas prenhes a uma mistura de dose baixa de seis praguicidas (Ciromazina, MCPB, Pirimicarb,
299 Quinoclamina, Thiram e Ziram) durante prenhez e lactação; o estudo também apresentou filhotes
300 com baixo peso.

301 A *deltametrina* já mostrou causar influência no crescimento, quando alterou a expressão do
302 mRNA de IGF-I, IGF-II e GH-I do peixe conhecido como truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em
303 estudo utilizando concentrações de 0,25 ug/L a 2,5 ug/L (30), nesse caso destaca-se a IGF-II,
304 importante no crescimento intrauterino.

305 Observamos uma redução do peso de nascimento dos ratos na 2ª geração após o
306 tratamento (F2). O fato de não ter sido observada esta mesma alteração na geração anterior (F1),
307 demonstra um padrão transgeracional de implicação clínica da *deltametrina*. Não foram
308 encontrados estudos explorando o tamanho ao nascer, o padrão transgeracional e o contato a
309 *deltametrina*, piretroides ou quaisquer outros praguicidas.

310 Deve-se levar em consideração que o estudo com animais pressupõe um cuidado ao se
311 comparar com humanos, mas nos fornece pistas para investigações mais detalhadas. Se
312 extrapolarmos esses dados, devemos salientar que o baixo peso ao nascer tem sido relacionado
313 com doenças crônicas na vida adulta (31). *Svingen* e colaboradores observaram alguma relação
314 entre os ratos com baixo peso de nascimento, após a exposição a uma mistura de praguicidas
315 (29) e o desenvolvimento de distúrbios metabólicos na vida adulta; porém, sem dados concretos
316 sobre o desenvolvimento de obesidade (32). Nosso estudo contemplou a avaliação do peso
317 corpóreo na vida adulta, no entanto, diferenças estatísticas não foram encontradas.

318 Nossos resultados mostraram que não foram encontradas diferenças estatísticas ao
319 analisar o peso, para todas as relações e combinações possíveis. E, ao avaliarem-se os fatores
320 isoladamente, os machos foram mais pesados que as fêmeas (tabela 3; figura 4B), como é o
321 esperado para ratos saudáveis. O índice de *Lee* é um importante parâmetro antropométrico para
322 avaliação de obesidade; todavia, não foram encontradas diferenças de peso, comparando animais
323 oriundos do grupo exposto com os animais do grupo controle, no momento da eutanásia. (tabela
324 3; figura 4C).

325 Ao analisar a obesidade como efeito do diclorodifeniltricloroetano (DDT), em um outro
326 estudo transgeracional com F0 (exposta diretamente), F1 (exposta via uterina), a F2 não
327 desenvolveu obesidade e a geração F3 teve mais de 50% dos animais desenvolvendo obesidade.
328 Também foram identificadas epimutações no esperma e regiões com metilação de DNA, nos
329 animais da F3. (33).

330 Em relação ao peso da glândula hipófise, foi verificado que o fator sexo promove efeito, em
331 que os machos apresentaram pesos relativos de hipófise menores, quando comparados às
332 fêmeas, independentemente do grupo e/ou geração (tabela 3; figura 4D). Um dimorfismo sexual

333 da hipófise já foi demonstrado em humanos, por *MacCaster* (34) que também explicitou uma
334 possível relação do tamanho da hipófise com a sua atividade endócrina. Portanto, a
335 homogeneidade dos pesos das hipófises das fêmeas em nosso estudo pode ser explicada por
336 todas terem sofrido a eutanásia na mesma fase do ciclo estral.

337 É muito cedo para afirmar que a exposição materna (F0) e do feto (F1) à *deltametrina* foi a
338 causa do baixo peso de nascimento em F2, pois não há nenhum mecanismo biológico conhecido,
339 atualmente, para isso poder ser postulado. É necessário um estudo mais aprofundado para
340 confirmar que esse resultado é reprodutível. Ainda mais, em se tratando de alterações em F2, já
341 que os resultados demonstrados na literatura, até agora (17,33), expõem programações em F0 e
342 alterações em F3. No entanto, o presente estudo traz uma nova informação a ser explorada, no
343 que se refere à exposição a piretroides na vida uterina. Logo, ressalta-se, é necessário cautela
344 quanto à utilização de inseticidas com ativos piretroides, sobretudo em gestantes.

345 Outra importante observação é que, entre a dose testada neste estudo e as doses
346 estudadas em outros trabalhos, há um considerável número de possibilidades a serem
347 investigadas e seus possíveis riscos da exposição. Além disso, baixas concentrações são
348 importantes quando se fala em DE, mas existe também, a característica não-monotônica dessas
349 substâncias. Apesar da característica não-monotônica não ser sinônimo de baixa dose, a não-
350 monotonicidade reitera a importância dos estudos em diferentes concentrações, quando se
351 investiga a capacidade de desregulação em algum nível do sistema endócrino (35).

352 Conclui-se que a administração intraperitoneal de *deltametrina* (0,01 mg.kg⁻¹ de peso
353 corpóreo) não causou alterações na prenhez da geração parental; no entanto, a *deltametrina*
354 parece influenciar no tamanho dos filhotes da F2, os quais tiveram baixo peso de nascimento
355 comparados aos animais oriundos das fêmeas não expostas em F0. Todavia, a *deltametrina* não
356 influenciou nos dados de peso, no índice de *Lee* e no peso da hipófise coletados no momento da
357 eutanásia. Ademais, observou-se que as fêmeas apresentaram hipófises maiores se comparadas
358 com machos, mas não como um efeito da exposição ao xenobiótico em questão.

359

Agradecimentos

360 Os autores agradecem à Fundação Araucária e a Secretaria de Saúde do Estado do Paraná
361 (SESA) pelo apoio financeiro. Agradecemos à Prof^a. Dr^a Ana Tereza Bittencourt Guimarães pela
362 análise estatística.

363

Conflito de interesses

364 Os autores declaram não haver conflito de interesse na presente pesquisa.

Referências Bibliográficas do Artigo Original

365

- 366 1. Valle D, Pimenta DN, Aguiar R. Zika, dengue e chikungunya: desafios e questões.
367 Epidemiol e Serviços Saúde [Internet]. 2016 Jun [cited 2018 Feb 21];25(2):419–22.
368 Available from: [http://www.iec.pa.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679-](http://www.iec.pa.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742016000200419&scielo=S2237-96222016000200419)
369 [49742016000200419&scielo=S2237-96222016000200419](http://www.iec.pa.gov.br/template_doi_ess.php?doi=10.5123/S1679-49742016000200419&scielo=S2237-96222016000200419)
- 370 2. Brasil M da S. Ministério da Saúde atualiza casos de febre amarela [Internet]. 2018-01-30.
371 2018 [cited 2018 Feb 21]. Available from: [http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-](http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42422-ministerio-da-saude-atualiza-casos-de-febre-amarela-30-jan)
372 [saude/42422-ministerio-da-saude-atualiza-casos-de-febre-amarela-30-jan](http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42422-ministerio-da-saude-atualiza-casos-de-febre-amarela-30-jan)
- 373 3. Laura de Sene Amâncio Zara – A, Laura de Sene Amâncio Zara A, Maria dos Santos S,
374 Synthia Fernandes-Oliveira E, Gomes Carvalho R, Evelim Coelho G. Aedes aegypti control
375 strategies: a review. [cited 2018 Feb 21]; Available from:
376 [https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/ress/v](https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/ress/v25n2/2237-9622-ress-25-02-00391.pdf)
377 [25n2/2237-9622-ress-25-02-00391.pdf](https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/ress/v25n2/2237-9622-ress-25-02-00391.pdf)
- 378 4. Casida JE, Quistad GB. GOLDEN AGE OF INSECTICIDE RESEARCH: Past, Present, or
379 Future? Annu Rev Entomol. 1998;43:1–16.
- 380 5. Brasil M da AP e A. PORTARIA Nº 329, DE 02 DE SETEMBRO DE 1985 [Internet]. 329
381 1985 p. 1. Available from:
382 http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mapa_gm/1985/prt0329_02_09_1985.html
- 383 6. Saillenfait AM, Ndiaye D, Sabaté JP. Pyrethroids: Exposure and health effects - An update.
384 International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2015.
- 385 7. US EPA OO. Pyrethrins and Pyrethroids. United States Dep Agric - Agric Mark Serv
386 [Internet]. 2017 [cited 2018 Feb 28]; Available from: [https://www.epa.gov/ingredients-used-](https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids)
387 [pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids](https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids)
- 388 8. Zaim M, Jambulingam P, WHO. Global insecticide use for vector-borne disease control / by

- 389 M. Zaim and P. Jambulingam. 2004. Report No.: 2nd ed.
- 390 9. Brasil M da S. Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue
391 [Internet]. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2009 [cited 2018 Feb 27]. 162 p. Available
392 from: <http://www.saude.gov.br/svs>
- 393 10. Hmdb.ca. Human Metabolome Database: Showing metabocard for 2-Pentadecanone
394 (HMDB31081) [Internet]. 2016. Available from:
395 [http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB3](http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB31081%5Cnhttp://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB3)
396 [1081#biological_properties](http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB31081#biological_properties)
- 397 11. Miyamoto J. Degradation, Metabolism and Toxicity of Synthetic Pyrethroids. *Environ Health*
398 *Perspect.* 1976;14:15–28.
- 399 12. Andrade AJM, Araújo S, Santana GM, Ohi M, Dalsenter PR. Reproductive effects of
400 deltamethrin on male offspring of rats exposed during pregnancy and lactation. *Regul*
401 *Toxicol Pharmacol.* 2002 Dec;36(3):310–7.
- 402 13. Dewailly E, Forde M, Robertson L, Kaddar N, Laouan Sidi EA, Côté S, et al. Evaluation of
403 pyrethroid exposures in pregnant women from 10 Caribbean countries. *Environ Int.* 2014;
- 404 14. Fortin MC, Bouchard M, Carrier G, Dumas P. Biological monitoring of exposure to pyrethrins
405 and pyrethroids in a metropolitan population of the Province of Quebec, Canada. *Environ*
406 *Res.* 2008;
- 407 15. Ortiz-Pérez MD, Torres-Dosal A, Batres LE, López-Guzmán OD, Grimaldo M, Carranza C,
408 et al. Environmental health assessment of deltamethrin in a malarious area of Mexico:
409 environmental persistence, toxicokinetics, and genotoxicity in exposed children. *Environ*
410 *Health Perspect.* 2005 Jun;113(6):782–6.
- 411 16. Shukla Y, Taneja P. Mutagenic evaluation of deltamethrin using rodent dominant lethal
412 assay. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2000;

- 413 17. Skinner MK. Endocrine disruptors in 2015: Epigenetic transgenerational inheritance. Nat
414 Rev Endocrinol. 2016;12(2):68.
- 415 18. Li X, Sundquist J, Sundquist K. Parental occupation and risk of small-for-gestational-age
416 births: a nationwide epidemiological study in Sweden. Hum Reprod [Internet]. 2010 Apr
417 [cited 2018 Feb 23];25(4):1044–50. Available from:
418 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20133322>
- 419 19. Préau L, Fini JB, Morvan-Dubois G, Demeneix B. Thyroid hormone signaling during early
420 neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption.
421 Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms. 2015.
- 422 20. Daxinger L, Whitelaw E. Transgenerational epigenetic inheritance: more questions than
423 answers. Genome Res. 2010 Dec;20(12):1623–8.
- 424 21. PATTERSON LLB and BD. Carcass Fat Content in Weanling and Adult Female Rats With
425 Hypothalamic Lesions. J Endocrinol [Internet]. 1968;40(1965):527–8. Available from:
426 <http://joe.endocrinology-journals.org/content/40/4/527>
- 427 22. StatSoft I. Electronic Statistics Textbook [Internet]. Tulsa; 2013 [cited 2018 Feb 14].
428 Available from: <http://www.statsoft.com/Textbook>
- 429 23. Sangha G. Development and behavioural toxicity of deltamethrin on *Rattus norvegicus*
430 following gestational exposure. J Appl Nat Sci. 2016;8(1):40–5.
- 431 24. Mayhoub F, Berton T, Bach V, Tack K, Deguines C, Floch-Barneaud A, et al. Self-reported
432 parental exposure to pesticide during pregnancy and birth outcomes: The MecoExpo cohort
433 study. PLoS One. 2014;9(6):1–14.
- 434 25. Zhang J, Yoshinaga J, Hisada A, Shiraishi H, Shimodaira K, Okai T, et al. Prenatal
435 pyrethroid insecticide exposure and thyroid hormone levels and birth sizes of neonates. Sci
436 Total Environ. 2014;

- 437 26. Hisada A, Yoshinaga J, Zhang J, Kato T, Shiraishi H, Shimodaira K, et al. Maternal
438 exposure to pyrethroid insecticides during pregnancy and infant development at 18 months
439 of age. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(1):1–9.
- 440 27. Guo H, Jin Y, Cheng Y, Leaderer B, Lin S, Holford TR, et al. Prenatal exposure to
441 organochlorine pesticides and infant birth weight in China. *Chemosphere* [Internet]. 2014
442 Sep [cited 2018 Mar 1];110:1–7. Available from:
443 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24880592>
- 444 28. Migeot V, Albouy-Llaty M, Carles C, Limousi F, Strezlec S, Dupuis A, et al. Drinking-water
445 exposure to a mixture of nitrate and low-dose atrazine metabolites and small-for-gestational
446 age (SGA) babies: A historic cohort study. *Environ Res* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2018
447 Mar 1];122:58–64. Available from:
448 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935112003465>
- 449 29. Hass U, Christiansen S, Axelstad M, Scholze M, Boberg J. Combined exposure to low
450 doses of pesticides causes decreased birth weights in rats. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2017
451 Sep [cited 2018 Mar 2];72:97–105. Available from:
452 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28526456>
- 453 30. Aksakal E, Ceyhun SB, Erdoğan O, Ekinci D. Acute and long-term genotoxicity of
454 deltamethrin to insulin-like growth factors and growth hormone in rainbow trout. *Comp
455 Biochem Physiol Part C Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2018 Feb
456 26];152(4):451–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647053>
- 457 31. Vuguin PM. Animal models for small for gestational age and fetal programming of adult
458 disease. *Horm Res* [Internet]. 2007 [cited 2018 Feb 21];68(3):113–23. Available from:
459 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17351325>
- 460 32. Svingen T, Ramhøj L, Mandrup K, Christiansen S, Axelstad M, Vinggaard AM, et al. Effects
461 on metabolic parameters in young rats born with low birth weight after exposure to a mixture

- 462 of pesticides. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):305. Available from:
463 <http://www.nature.com/articles/s41598-017-18626-x>
- 464 33. Skinner MK, Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, Haque M, Nilsson EE. Ancestral
465 dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) exposure promotes epigenetic transgenerational
466 inheritance of obesity. *BMC Med*. 2013;11(1):228.
- 467 34. MacMaster FP, Keshavan M, Mirza Y, Carrey N, Upadhyaya AR, El-Sheikh R, et al.
468 Development and sexual dimorphism of the pituitary gland. *Life Sci* [Internet]. 2007 Feb 13
469 [cited 2018 Mar 1];80(10):940–4. Available from:
470 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17174342>
- 471 35. Schug TT, Abagyan R, Blumberg B, Collins TJ, Crews D, DeFur PL, et al. Designing
472 endocrine disruption out of the next generation of chemicals. *Green Chem*. 2013;
- 473

5 CONCLUSÕES GERAIS DA DISSERTAÇÃO

Com base nos dados apresentados e nas condições experimentais descritas, pode-se concluir que:

- em ambos os grupos, quanto maior a variação de peso das fêmeas ao longo da prenhez maior era o número de filhotes gestados;
- em ambos os grupos, as ratas apresentaram variação de peso equivalente ao longo da gestação;
- não houve diferença no peso dos filhotes ao nascer quando considerada a interação dos fatores grupos, geração e sexo;
- os filhotes nascidos na segunda geração (f2), oriundos do grupo tratamento, apresentaram pesos menores do que os nascidos em f1;
- não houve diferenças nos valores de peso dos ratos no momento da eutanásia;
- não houve diferenças nos valores de índice de *lee* obtidos;
- não houve diferenças em relação ao peso da hipófise;
- os machos apresentaram significativamente menores pesos de hipófise quando comparados às fêmeas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da análise de medidas antropométricas não se verificou diferenças nas proles de ratas tratadas com deltametrina: quanto à variação de peso ao longo da gestação; quanto ao peso dos filhotes nascidos em F1; quanto aos valores de peso dos ratos e índice de *Lee* no momento da eutanásia; quanto ao peso da hipófise.

Entretanto, os filhotes nascidos na segunda geração (F2), oriundos do grupo Tratamento, apresentaram pesos menores em relação aos nascidos em F1. Isso demonstra um padrão clínico transgeracional, onde se relaciona o peso baixo ao nascer com a exposição de F0 à deltametrina durante a prenhez.

Apesar de ser muito cedo para afirmar que a exposição materna (F0) e do feto (F1) à deltametrina foi a causa do baixo peso de nascimento em F2, este trabalho reitera a necessidade de mais estudos avaliando os riscos da exposição a baixas doses de alguns xenobióticos. Estudos mais aprofundados poderão confirmar que este resultado é reprodutível e nos aproximariam das reais causas biológicas.

7 ANEXOS

Formato Geral de publicação nos Archives of Endocrinology and Metabolism

Os **ABE&M** exige que todos os manuscritos (MS) sejam apresentados em formato de coluna única, seguindo as seguintes orientações:

- o manuscrito deve ser apresentado em formato Word;
- todo o texto deve ser em espaço duplo, com margens de 2 cm de ambos os lados, usando fonte *Times New Roman* ou Arial, tamanho 11;
- todas as linhas devem ser numeradas, no manuscrito inteiro, e todo o documento deve ser paginado;
- todas as tabelas e figuras devem ser colocadas após o texto e devem ser legendadas. Os MS submetidos devem ser completos, incluindo a página de título, resumo, figuras e tabelas. Documentos apresentados sem todos esses componentes serão colocados em espera até que o manuscrito esteja completo.

Todas as submissões devem incluir:

- Uma carta informando a importância e relevância do artigo e solicitando que o mesmo seja para publicação nos **ABE &M**. No formulário de inscrição os autores podem sugerir até três revisores específicos e / ou solicitar a exclusão de até outros três.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. 1. Página de título.
2. 2. Resumo (ou Sumário para os casos clínicos).
3. 3. Texto principal.
4. 4. Tabelas e Figuras. Devem ser citadas no texto principal em ordem numérica.
5. 5. Agradecimentos.
6. 6. Declaração de financiamento, conflitos de interesse e quaisquer subsídios ou bolsas de apoio recebidos para a realização do trabalho
7. 7. Referências.

Página de Título

A página de rosto deve conter as seguintes informações:

1. 1. Título do artigo.

2. 2. Nomes completos dos autores e co-autores, departamentos, instituições, cidade e país.
3. 3. Nome completo, endereço postal, e-mail, telefone e fax do autor para correspondência
4. 4. Título abreviado de no máximo 40 caracteres para títulos de página
5. 5. Palavras-chave (recomenda-se usar *MeSH terms* e até 5).
6. 6. Número de palavras - excluindo a página de rosto, resumo, referências, figuras e tabelas.
7. 7. Tipo do manuscrito.

Resumos

Todos os artigos originais, comunicados rápidos e relatos de casos deverão ser apresentados com resumos de no máximo 250 palavras. O resumo deve conter informações claras e objetivas sobre o estudo de modo que possa ser compreendido, sem consulta ao texto. O resumo deve incluir quatro seções que refletem os títulos das seções do texto principal. Todas as informações relatadas no resumo deve ter origem no MS. Por favor, use frases completas para todas as seções do resumo.

Introdução

O propósito da introdução é estimular o interesse do leitor para o trabalho em questão com uma perspectiva histórica e justificando os seus objetivos.

Materiais e Métodos

Devem ser descritos em detalhe como o estudo foi conduzido de forma que outros investigadores possam avaliar e reproduzir o trabalho. A origem dos hormônios, produtos químicos incomuns, reagentes e aparelhos devem ser indicados. Para os métodos modificados, apenas as novas modificações devem ser descritas.

Resultados e Discussão

A seção Resultados deve apresentar brevemente os dados experimentais tanto no texto quanto por tabelas e / ou figuras. Deve-se evitar a repetição no texto dos resultados apresentados nas tabelas. Para mais detalhes sobre a preparação de tabelas e figuras, veja abaixo. A Discussão deve se centrar na interpretação e

significado dos resultados, com comentários objetivos, concisos, que descrevem sua relação com outras pesquisas nessa área. Na Discussão devemos evitar a repetição dos dados apresentados em Resultados, pode conter sugestões para explicá-los e deve terminar com as conclusões.

Autoria

Os **ABE&M** adotam as diretrizes de autoria e de contribuição definidas pelo Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos (www.ICMJE.org). Co - autoria irrestrita é permitido. O crédito de autoria deve ser baseado apenas em contribuições substanciais para:

- concepção e desenho, análise ou interpretação de dados
- redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual
- aprovação final da versão a ser publicada.

Todas essas condições devem ser respeitadas. O primeiro autor é responsável por garantir a inclusão de todos os que contribuíram para a realização do MS e que todos concordaram com seu conteúdo e sua submissão aos **ABE&M**.

Conflito de interesses

Uma declaração de conflito de interesse para todos os autores deve ser incluída no documento principal, seguindo o texto, na seção Agradecimentos. Mesmo que os autores não tenham conflito de interesse relevante a divulgar, devem relatar na seção Agradecimentos.

Agradecimentos

A seção Agradecimentos deve incluir os nomes das pessoas que contribuíram para o estudo, mas não atendem aos requisitos de autoria. Os autores são responsáveis por informar a cada pessoa listada na seção de agradecimentos a sua inclusão e qual sua contribuição. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso de seu nome. É da responsabilidade dos autores coletar essas informações.

Referências

As referências da literatura devem estar em ordem numérica (entre parênteses), de acordo com a citação no texto, e listadas na mesma ordem numérica no final do

manuscrito, em uma página separada. Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. O número de referências citadas deve ser limitado, como indicado acima, para cada categoria de apresentação.

Tabelas

As tabelas devem ser apresentadas no mesmo formato que o artigo (Word). Atenção: não serão aceitas tabelas como arquivos de Excel. As tabelas devem ser auto-explicativas e os dados não devem ser repetidos no texto ou em figuras e conter as análises estatísticas. As tabelas devem ser construídas de forma simples e serem compreensíveis sem necessidade de referência ao texto. Cada tabela deve ter um título conciso. Uma descrição das condições experimentais pode aparecer em conjunto como nota de rodapé.

Gráficos e Figuras

Todas os gráficos ou Figuras devem ser numerados. Os autores são responsáveis pela formatação digital, fornecendo material adequadamente dimensionado. Todas as figuras coloridas serão reproduzidas igualmente em cores na edição online da revista, sem nenhum custo para os autores. Os autores serão convidados a pagar o custo da reprodução de figuras em cores na revista impressa. Após a aceitação do manuscrito, a editora fornecerá o valor dos custos de impressão.

Fotografias

Os **ABE&M** preferem publicar fotos de pacientes sem máscara. Encorajamos os autores a obter junto aos pacientes ou seus familiares, antes da submissão do MS, permissão para eventual publicação de imagens. Se o MS contiver imagens identificáveis do paciente ou informações de saúde protegidas, os autores devem enviar autorização documentada do próprio paciente, ou pais, tutor ou representante legal, antes do material ser distribuído entre os editores, revisores e outros funcionários dos **ABE&M**. Para identificar indivíduos, utilizar uma designação numérica (por exemplo, Paciente 1); não utilizar as iniciais do nome.

Unidades de Medida

Os resultados devem ser expressos utilizando o Sistema Métrico. A temperatura deve ser expressa em graus Celsius e tempo do dia usando o relógio de 24 horas (por exemplo, 0800 h, 1500 h).

Abreviaturas padrão

Todas as abreviaturas no texto devem ser definidas imediatamente após a primeira utilização da abreviatura.

Pacientes

Para que o MS seja aceito para submissão, todos os procedimentos descritos no estudo devem ter sido realizados em conformidade com as diretrizes da Declaração de Helsinque e devem ter sido formalmente aprovados pelos comitês de revisão institucionais apropriados, ou seu equivalente. As características das populações envolvidas no estudo devem ser detalhadamente descritas. Os indivíduos participantes devem ser identificados apenas por números ou letras, nunca por iniciais ou nomes. Fotografias de rostos de pacientes só devem ser incluídos se forem cientificamente relevantes. Os autores devem obter o termo de consentimento por escrito do paciente para o uso de tais fotografias. Para mais detalhes, consulte as Diretrizes Éticas. Os pesquisadores devem divulgar aos participantes do estudo potenciais conflitos de interesse e devem indicar que houve esta comunicação no MS.

Animais de Experimentação

Deve ser incluída uma declaração confirmando que toda a experimentação descrita no MS foi realizada de acordo com padrões aceitos de cuidado animal, como descrito nas Diretrizes Éticas.

Descrição Genética Molecular

Usar terminologia padrão para as variantes polimórficas, fornecendo os números de rs para todas as variantes relatadas. Detalhes do ensaio, como por exemplo as sequências de iniciadores de PCR, devem ser descritos resumidamente junto aos números rs. Os heredogramas devem ser elaborados de acordo com normas

publicadas em Bennett *et al.* J Genet Counsel (2008) 17:424-433 -. DOI 10.1007/s10897-008-9169-9.

Nomenclaturas

Para genes, use a notação genética e símbolos aprovados pelo Comité de Nomenclatura HUGO Gene (HGNC) - (<http://www.genenames.org/~V>). Para mutações siga as diretrizes de nomenclatura sugeridos pela Sociedade Human Genome Variation (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>)

- Fornecer e discutir os dados do equilíbrio Hardy-Weinberg dos polimorfismos analisado na população estudada. O cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg pode ajudar na descoberta de erros de genotipagem e do seu impacto nos métodos analíticos.
- Fornecer as frequências originais dos genótipos, dos alelos e dos haplotipos
- Sempre que possível, o nome genérico das drogas devem ser referidos. Quando um nome comercial de propriedade é usado, ele deve começar com letra maiúscula.
- Siglas devem ser usados com moderação e totalmente explicadas quando usadas pela primeira vez.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA

ABDUL-HAMID, M.; SALAH, M. Lycopene reduces deltamethrin effects induced thyroid toxicity and DNA damage in albino rats. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 66, n. 4, p. 155–163, 1 ago. 2013.

ABIFINA. Associação Brasileira das Indústrias de Química Fina, Biotecnologia e sua especialidade. Defensivos Agrícolas. Encontrado em: <http://www.abifina.org.br/>

ADESANYA, OO; ZHOU, J.; SAMATHANAM, C.; POWELL-BRAXTON, L.; BONDY, CA. Insulin-like growth factor 1 is required for G2 progression in the estradiol-induced mitotic cycle. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 6, p. 3287–91, 16 mar. 1999.

AKHTAR, N.; KAYANI, S. A.; AHMAD, M. M.; SHAHAB, M. Insecticide-induced changes in secretory activity of the thyroid gland in rats. **Journal of Applied Toxicology**, v. 16, n. 5, p. 397–400, 1996.

ALAVANJA, M. C. R. 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.

ANDRADE, A. J. M.; ARAÚJO, S.; SANTANA, G. M.; OHI, M.; DALSENTER, P. R. Reproductive effects of deltamethrin on male offspring of rats exposed during pregnancy and lactation. **Regulatory toxicology and pharmacology** : RTP, v. 36, n. 3, p. 310–7, dez. 2002.

ANWAY, M. D.; CUPP, A. U S; SKINNER, M. Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility. **Science**, v. 308, n. 5727, p. 1466 LP-1469, jun. 2005.

ATSDR. Toxicological Profile for pyrethrins and pyrethroids. U.S. Department of Health And Human Services. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. Sep. 2003. Encontrado: <https://www.atsdr.cdc.gov>

BARR, D. B.; OLSSON, A. O.; WONG, L. Y.; UDUNKA, S.; BAKER, S. E.; WHITEHEAD, R. D.; MAGSUMBOL, M. S.; WILLIAMS, B. L.; NEEDHAM, L. L. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general u.s. population: National health and nutrition examination survey 1999-2002. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 6, p. 742–748, 2010.

BELL, E. M.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; BEAUMONT, J. J. A case-control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, v. 12, n. 2, p. 148–56, mar. 2001.

BEN SLIMA, A.; CHTOUROU, Y.; BARKALLAH, M.; FETOUI, H.; BOUDAWARA, T.; GDOURA, R. Endocrine disrupting potential and reproductive dysfunction in male mice exposed to deltamethrin. **Human & Experimental Toxicology**, v. 36, n. 3, p. 218–226, 2017.

BENDER, J. DNA Methylation and Epigenetics. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, n. 1, p. 41–68, 2 jun. 2004.

BIRNBAUM, L. S.; FENTON, S. E. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 4, p. 389–394, 2003.

BRADBERRY, S. M.; CAGE, S. A.; PROUDFOOT, A. T.; ALLISTER VALE, J. Poisoning due to pyrethroids. **Toxicological Reviews**, v. 24, n. 2, p. 93–106, 2005.

BRASIL. ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. Relatório complementar relativo à segunda etapa das análises de amostras coletadas em 2012. Gerência-geral de Toxicologia. Brasília, out. 2014. Encontrado em: portal.anvisa.gov.br

BRASIL. ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em alimentos. Relatório de Atividades de 2013 a 2015. Gerência-geral de Toxicologia. Brasília, 25 nov. 2014. Encontrado em: portal.anvisa.gov.br

BRASIL. Diretrizes E Exigências Referentes À Autorização De Registros, Renovação De Registro E Extensão De Uso De Produtos Agrotóxicos E Afins - N^o 1, De 9 De Dezembro De 1991, 1992.

BRASIL. ANVISA. Registros e autorizações. Agrotóxicos. Produtos. Monografias autorizadas - Anvisa. Encontrado em: portal.anvisa.gov.br

BRASIL. Sinitox. FIOCRUZ. Dados Nacionais. Casos Registrados de Intoxicação Humana por Agente Tóxico e Circunstância. Brasil, 2012. Encontrado em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/>

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Agrotóxicos. Encontrado em: <http://www.mma.gov.br>

BRENT, G. A. Science in medicine Mechanisms of thyroid hormone action. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 9, p. 3035–3043, 2012.

CABRAL, J. R.; GALENDO, D.; LAVAL, M.; LYANDRAT, N. Carcinogenicity studies with deltamethrin in mice and rats. **Cancer letters**, v. 49, n. 2, p. 147–52, fev. 1990.

CASIDA, J.; QUISTAD, G. Golden age of insecticide research: past, present, or future? **Annual review of entomology**, v. 43, n. 1, p. 1–16, 1998.

CASTRO, J. S. M.; CONFALONIERI, U. Uso de agrotóxicos no Município de Cachoeiras de Macacu (RJ). **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, n. 2, p. 473–482, 2005.

CHARALAMBOUS, M.; HERNANDEZ, A. Genomic imprinting of the type 3 thyroid hormone deiodinase gene: Regulation and developmental implications. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1830, n. 7, p. 3946–3955, 2013.

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 saude publica**, v. 18, n. 2, p. 379–402, 2002.

CORDIER, S.; BOUQUET, E.; WAREMBOURG, C.; MASSART, C.; ROUGET, F.; KADHEL, P.; BATAILLE, H.; MONFORT, C.; BOUCHER, O.; MUCKLE, G.; MULTIGNER, L. Perinatal exposure to chlordecone, thyroid hormone status and

neurodevelopment in infants: The Timoun cohort study in Guadeloupe (French West Indies). **Environmental Research**, v. 138, p. 271–278, 2015.

CUNHA, G. C.-P.; VAN RAVENZWAAY, B. Evaluation of mechanisms inducing thyroid toxicity and the ability of the enhanced OECD Test Guideline 407 to detect these changes. **Archives of Toxicology**, v. 79, n. 7, p. 390–405, 4 jul. 2005.

DAXINGER, L.; WHITELAW, E. Transgenerational epigenetic inheritance: more questions than answers. **Genome research**, v. 20, n. 12, p. 1623–8, dez. 2010.

DE BOER, S. F.; VAN DER GUGTEN, J.; SLANGEN, J. L.; HIJZEN, T. H. Changes in plasma corticosterone and catecholamine contents induced by low doses of deltamethrin in rats. **Toxicology**, v. 49, n. 2–3, p. 263–270, 1 maio 1988.

DEWAILLY, E.; FORDE, M.; ROBERTSON, L.; KADDAR, N.; LAOUAN SIDI, E. A.; CÔTÉ, S.; GAUDREAU, E.; DRESCHER, O.; AYOTTE, P. Evaluation of pyrethroid exposures in pregnant women from 10 Caribbean countries. **Environment International**, v. 63, p. 201–206, 2014.

DIAMANTI-KANDARAKIS, E.; BOURGUIGNON, J.-P.; GIUDICE, L. C.; HAUSER, R.; PRINS, G. S.; SOTO, A. M.; ZOELLER, R. T.; GORE, A. C. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. **Endocrine Reviews**, v. 30, n. 4, p. 293–342, 2009.

DOI, H.; KIKUCHI, H.; MURAI, H.; KAWANO, Y.; SHIGETO, H.; OHYAGI, Y.; KIRA, J. Motor neuron disorder simulating ALS induced by chronic inhalation of pyrethroid insecticides. **Neurology**, v. 67, n. 10, p. 1894–1895, 2006.

ERDOGAN, S.; HANDAN ZEREN, E.; EMRE, M.; AYDIN, O.; GUMURDULU, D. Pulmonary effects of deltamethrin inhalation: an experimental study in rats. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 63, n. 2, p. 318–323, 1 fev. 2006.

EVANS, T. J. Endocrine Disruption. In: *Reproductive and Developmental Toxicology*. [s.l: s.n.]. p. 1091–1110.

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

FEKETE, C.; LECHAN, R. M. Central regulation of hypothalamic-pituitary-thyroid axis under physiological and pathophysiological conditions. **Endocrine Reviews**, v. 35, n. 2, p. 159–194, 2014.

FERREIRA, B. Criação e Manejo de Ratos. *Animais de Laboratório: criação e experimentação* [online]., p. 388 p., 2002.

FORTIN, M. C.; BOUCHARD, M.; CARRIER, G.; DUMAS, P. Biological monitoring of exposure to pyrethrins and pyrethroids in a metropolitan population of the Province of Quebec, Canada. **Environmental Research**, v. 107, n. 3, p. 343–350, 2008.

FREIRE, C.; KOIFMAN, R. J.; SARCINELLI, P. N.; SIMÕES ROSA, A. C.; CLAPAUCH, R.; KOIFMAN, S. Long-term exposure to organochlorine pesticides and

thyroid status in adults in a heavily contaminated area in Brazil. **Environmental Research**, v. 127, p. 7–15, 2013.

FURLONG, M. A.; BARR, D. B.; WOLFF, M. S.; ENGEL, S. M. Prenatal exposure to pyrethroid pesticides and childhood behavior and executive functioning. **NeuroToxicology**, v. 62, p. 231–238, 2017.

GIRAY, B.; CAĞLAYAN, A.; ERKEKOĞLU, P.; HINCAL, F. Fenvalerate exposure alters thyroid hormone status in selenium- and/or iodine-deficient rats. **Biological Trace Element Research**, v. 135, n. 1–3, p. 233–241, 2010.

GOLDNER, W. S.; SANDLER, D. P.; YU, F.; HOPPIN, J. A.; KAMEL, F.; LEVAN, T. D. Pesticide use and thyroid disease among women in the agricultural health study. **American Journal of Epidemiology**, v. 171, n. 4, p. 455–464, 2010.

GOLDNER, W. S.; SANDLER, D. P.; YU, F.; SHOSTROM, V.; HOPPIN, J. A.; KAMEL, F.; LEVAN, T. D. Hypothyroidism and Pesticide Use Among Male Private Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 55, n. 10, p. 1171–1178, out. 2013.

GRÜN, F.; BLUMBERG, B. Endocrine disruptors as obesogens. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 304, n. 1–2, p. 19–29, 25 maio 2009.

GUNAWARDANE, K.; KRARUP HANSEN, T.; SANDAHL CHRISTIANSEN, J.; LUNDE JORGENSEN, J. O. Normal Physiology of Growth Hormone in Adults. [s.l.] MDText.com, Inc., 2000.

GUTLEB, A. C.; CAMBIER, S.; SERCHI, T. Impact of endocrine disruptors on the thyroid hormone system. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 86, n. 4, p. 271–278, 2016.

HALL, J. Tratado de Fisiologia Médica-Guyton e Hall. 13^a ed. Rio de Janeiro, Elsevier Ed., 2017.

HASS, U.; BOBERG, J.; CHRISTIANSEN, S.; JACOBSEN, P.; ROSENSKJOLD V.; ANNE M.; TAXVIG, C.; POULSEN, M. E.; HERRMANN, S. S. J.; JENSEN, B. H.; PETERSEN, A.; CLEMMENSEN, L. H.; AXELSTAD, M. Adverse effects on sexual development in rat offspring after low dose exposure to a mixture of endocrine disrupting pesticides. **Reproductive toxicology** (Elmsford, N.Y.), v. 34, n. 2, p. 261–74, 2012.

HASS, U.; CHRISTIANSEN, S.; AXELSTAD, M.; SCHOLZE, M.; BOBERG, J. Combined exposure to low doses of pesticides causes decreased birth weights in rats. **Reproductive Toxicology**, v. 72, p. 97–105, set. 2017.

HEARD, E.; MARTIENSSEN, R. A. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 95–109, 27 mar. 2014.

HERNÁNDEZ-MARIANO, J. Á.; TORRES-SÁNCHEZ, L.; BASSOL-MAYAGOITIA, S.; ESCAMILLA-NUÑEZ, M. C.; CEBRIAN, M. E.; VILLEDA-GUTIÉRREZ, É. A.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, G.; FÉLIX-ARELLANO, E. E.; BLANCO-MUÑOZ, J. Effect of exposure to p,p'-DDE during the first half of pregnancy in the maternal thyroid profile

of female residents in a Mexican floriculture area. **Environmental Research**, v. 156, n. April, p. 597–604, 2017.

HMDB. Human Metabolome Database: Showing metabocard for Deltamethrin (HMDB0041866). 2016. Disponível em: <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB31081%5Cnhttp://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB31081#biological_properties>

HOLLOWAY, A. C.; PETRIK, J. J.; YOUNGLAI, E. V. Influence of dichlorodiphenylchloroethylene on vascular endothelial growth factor and insulin-like growth factor in human and rat ovarian cells. **Reproductive Toxicology**, v. 24, n. 3–4, p. 359–364, 1 nov. 2007.

HUDSON, N. L.; KASNER, E. J.; BECKMAN, J.; MEHLER, L.; SCHWARTZ, A.; HIGGINS, S.; BONNAR-PRADO, J.; LACKOVIC, M.; MULAY, P.; MITCHELL, Y.; LARIOS, L.; WALKER, R.; WALTZ, J.; MORAGA-MCHALEY, S.; ROISMAN, R.; CALVERT, G. M. Characteristics and magnitude of acute pesticide-related illnesses and injuries associated with pyrethrin and pyrethroid exposures-11 states, 2000-2008. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 57, n. 1, p. 15–30, 2014.

HULL, K. L.; HARVEY, S. Growth Hormone and Reproduction: A Review of Endocrine and Autocrine/Paracrine Interactions. **International Journal of Endocrinology**, v. 2014, 2014.

HUSAIN, R.; MALAVIYA, M.; SETH, P. K.; HUSAIN, R. Effect of Deltamethrin on Regional Brain Polyamines and Behaviour in Young Rats. **Pharmacology & Toxicology**, v. 74, n. 6, p. 211–215, 1994.

JACOBSEN, P. R. et al. Combined exposure to endocrine disrupting pesticides impairs parturition, causes pup mortality and affects sexual differentiation in rats. **International Journal of Andrology**, v. 33, n. 2, p. 434–442, abr. 2010.

JAIN, R. B. Variability in the levels of 3-phenoxybenzoic acid by age, gender, and race/ethnicity for the period of 2001–2002 versus 2009–2010 and its association with thyroid function among general US population. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 7, p. 6934–6939, 2016.

JØRGENSEN, J. O. L.; HANSEN, T. K.; MØLLER, N.; JENS SANDAHL. Normal Physiology of Growth Hormone in Adults. **Uroendocrinology Hypothalamus and Pituitary**, v. 1962, n. 2, p. 1–13, 2010.

KANG, E.-R.; IQBAL, K.; TRAN, D. A.; RIVAS, G. E.; SINGH, P.; PFEIFER, G. P.; SZABÓ, P. E. Effects of endocrine disruptors on imprinted gene expression in the mouse embryo. **Epigenetics**, v. 6, n. 7, p. 937–950, 2011.

KIM, K.-B.; ANAND, S. S.; MURALIDHARA, S.; KIM, H. J.; BRUCKNER, J. V. Formulation-dependent toxicokinetics explains differences in the GI absorption, bioavailability and acute neurotoxicity of deltamethrin in rats. **Toxicology**, v. 234, n. 3, p. 194–202, 20 maio 2007.

KOLACZINSKI, J. H.; CURTIS, C. F. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: A review of the debate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 5, p. 697–706, 2004.

KOUREAS, M.; TSAKALOF, A.; TSATSAKIS, A.; HADJICHRISTODOULOU, C. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. **Toxicology Letters**, v. 210, n. 2, p. 155–168, 2012.

KRINKE, G. The laboratory rat. Academic Press. 756 pp. Jun, 2000.

KUMAR, A.; SASMAL, D.; SHARMA, N. Immunomodulatory role of piperine in deltamethrin induced thymic apoptosis and altered immune functions. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 39, n. 2, p. 504–514, 1 mar. 2015.

LAGARDE, F.; BEAUSOLEIL, C.; BELCHER, S. M.; BELZUNCES, L. P.; EMOND, C.; GUERBET, M.; ROUSSELLE, C. Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors: a qualitative method of assessment. **Environmental Health**, v. 14, p. 13, 2015.

LARON, Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. **J Clin Pathol: Mol Pathol**, v. 54, p. 311–316, 2001. /articles/PMC1187088/pdf/mp54000311.pdf>. Acesso em: 19 set. 2017.

LAURBERG, P.; KNUDSEN, N.; ANDERSEN, S.; CARLÉ, A.; PEDERSEN, I. B.; KARMISHOLT, J. Thyroid function and obesity. **European thyroid journal**, v. 1, n. 3, p. 159–67, out. 2012.

USA. Consumer Product Safety Improvement Act Of 2008. An Act. 122 STAT. 3016 PUBLIC LAW 110–314. p. 1–63. AUG. 14, 2008.

LERRO, C. C.; BEANE FREEMAN, L. E.; DELLAVALLE, C. T.; KIBRIYA, M. G.; ASCHEBROOK-KILFOY, B.; JASMINE, F.; KOUTROS, S.; PARKS, C. G.; SANDLER, D. P.; ALAVANJA, M. C. R.; HOFMANN, J. N.; WARD, M. H. Occupational pesticide exposure and subclinical hypothyroidism among male pesticide applicators. **Occupational and Environmental Medicine**, p. oemed-2017-104431, 2017.

LERRO, C. C.; KOUTROS, S.; ANDREOTTI, G.; FRIESEN, M. C.; ALAVANJA, M. C.; BLAIR, A.; HOPPIN, J. A.; SANDLER, D. P.; LUBIN, J. H.; MA, X.; ZHANG, Y.; BEANE FREEMAN, L. E. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 72, n. 10, p. 736–744, out. 2015.

LIU, P.; LIU, Y.; LIU, Q.; LIU, J. Photodegradation mechanism of deltamethrin and fenvalerato. **Journal of Environmental Sciences**, 2010. .

LIU, P.; WEN, W.-H.; SONG, X.-X.; YUAN, W.-H. [Effects of mixed cypermethrin and methylparathion on endocrine hormone levels and immune functions in rats: I. Dose-response relationship]. Wei sheng yan jiu. **Journal of hygiene research**, v. 35, n. 3, p. 257–60, maio 2006.

MAGALHÃES, J. Z.; UDO, M. S. B.; SÁNCHEZ-SARMIENTO, A. M.; CARVALHO, M. P. N.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Prenatal exposure to fipronil disturbs maternal aggressive behavior in rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 52, p. 11–16, 2015.

MANIKKAM, M.; GUERRERO-BOSAGNA, C.; TRACEY, R.; HAQUE, M. M.; SKINNER, M. K. Transgenerational Actions of Environmental Compounds on Reproductive Disease and Identification of Epigenetic Biomarkers of Ancestral Exposures. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e31901, 28 fev. 2012.

MATSUURA, I. SAITOH, T.; ASHINA, M.; WAKO, Y.; IWATA, H.; TOYOTA, N.; ISHIZUKA, Y.; NAMIKI, M.; HOSHINO, N.; TSUCHITANI, M. Evaluation of a two-generation reproduction toxicity study adding endpoints to detect endocrine disrupting activity using vinclozolin. **The Journal of toxicological sciences**, v. 30 Spec No, p. 163–188, 2005.

MCKINLAY, R.; PLANT, J. a.; BELL, J. N. B.; VOULVOULIS, N. Endocrine disrupting pesticides: Implications for risk assessment. **Environment International**, v. 34, n. 2, p. 168–183, 2008.

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

MESTRES, R.; MESTRES, G. Deltamethrin: uses and environmental safety. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, v. 124, p. 1–18, 1992.

MEYER-BARON, M.; KNAPP, G.; SCHÄPER, M.; VAN THRIEL, C. Meta-analysis on occupational exposure to pesticides - Neurobehavioral impact and dose-response relationships. **Environmental Research**, v. 136, p. 234–245, 2015.

MEYER, A.; SANDLER, D. P.; BEANE FREEMAN, L. E.; HOFMANN, J. N.; PARKS, C. G. Pesticide Exposure and Risk of Rheumatoid Arthritis among Licensed Male Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. **Environmental Health Perspectives**, v. 125, n. 7, p. 1–7, 2017.

MIYAMOTO, J. Degradation, metabolism and toxicity of synthetic pyrethroids. **Environmental Health Perspectives**, v. vol.14, n. April, p. 15–28, 1976.

MNIF, W.; HASSINE, A. I. H.; BOUAZIZ, A.; BARTEGI, A.; THOMAS, O.; ROIG, B. Effect of endocrine disruptor pesticides: A review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 6, p. 2265–2303, 2011.

MONIZ, A. C.; CRUZ-CASALLAS, P. E.; SALZGEBER, S. A.; VAROLI, F. M. F.; SPINOSA, H. S.; BERNARDI, M. M. Behavioral and endocrine changes induced by perinatal fenvalerate exposure in female rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 27, n. 4, p. 609–614, jul. 2005.

MORGAN, M. K. Children's exposures to pyrethroid insecticides at home: a review of data collected in published exposure measurement studies conducted in the United States. **International journal of environmental research and public health**, v. 9, n. 8, p. 2964–2985, 2012.

MOSER, V. C.; STEWART, N.; FREEBORN, D. L.; CROOKS, J.; MACMILLAN, D. K.; HEDGE, J. M.; WOOD, C. E.; MCMAHEN, R. L.; STRYNAR, M. J.; HERR, D. W. Assessment of serum biomarkers in rats after exposure to pesticides of different

chemical classes. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 282, n. 2, p. 161–174, 2015.

MULLUR, R.; LIU, Y.-Y.; BRENT, G. A. Thyroid Hormone Regulation of Metabolism. **Physiological Reviews**, v. 94, n. 2, p. 355–382, 2014.

NAKAGAWA, L. E.; COSTA, A. R.; POLATTO, R.; NASCIMENTO, C. M. do; PAPINI, S. Pyrethroid concentrations and persistence following indoor application. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 9999, n. 9999, p. 1–4, 2017.

NIH. U.S. National Library of Medicine. Toxicology Data Network. HSDB: Deltamethrin. Encontrado em: <https://toxnet.nlm.nih.gov>

ORTIGA-CARVALHO, T. M.; CHIAMOLERA, M. I.; PAZOS-MOURA, C. C.; WONDISFORD, F. E.; ORTIGA-CARVALHO, T. M.; CHIAMOLERA, M. I.; PAZOS-MOURA, C. C.; WONDISFORD, F. E. Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. In: *Comprehensive Physiology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2016. p. 1387–1428.

ORTIZ-PÉREZ, M. D.; TORRES-DOSAL, A.; BATRES, L. E.; LÓPEZ-GUZMÁN, O. D.; GRIMALDO, M.; CARRANZA, C.; PÉREZ-MALDONADO, I. N.; MARTÍNEZ, F.; PÉREZ-URIZAR, J.; DÍAZ-BARRIGA, F. Environmental health assessment of deltamethrin in a malarious area of Mexico: environmental persistence, toxicokinetics, and genotoxicity in exposed children. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 6, p. 782–6, jun. 2005.

PARENT, A. S.; FRANSSEN, D.; FUDVOYE, J.; GÉRARD, A.; BOURGUIGNON, J. P. Developmental variations in environmental influences including endocrine disruptors on pubertal timing and neuroendocrine control: Revision of human observations and mechanistic insight from rodents. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 38, p. 12–36, 2015.

PERERA, F. P.; RAUH, V.; TSAI, W. Y.; KINNEY, P.; CAMANN, D.; BARR, D.; BERNERT, T.; GARFINKEL, R.; TU, Y. H.; DIAZ, D.; DIETRICH, J.; WHYATT, R. M. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 2, p. 201–205, 2003.

PRÉAU, L.; FINI, J. B.; MORVAN-DUBOIS, G.; DEMENEIX, B. Thyroid hormone signaling during early neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption. **Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1849, n. 2, p. 112–121, 2015.

RAUN ANDERSEN, H.; VINGGAARD, A. M.; HØJ RASMUSSEN, T.; GJERMANDSEN, I. M.; CECILIE BONEFELD-JØRGENSEN, E. Effects of Currently Used Pesticides in Assays for Estrogenicity, Androgenicity, and Aromatase Activity in Vitro. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 179, n. 1, p. 1–12, 15 fev. 2002.

RUTANEN, E.-M. Insulin-like growth factors in endometrial function. **Gynecological Endocrinology**, v. 12, n. 6, p. 399–406, 7 jan. 1998.

SAILLENFAIT, A. M.; NDIAYE, D.; SABATÉ, J. P. Pyrethroids: Exposure and health effects - An update. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 218, n. 3, p. 281–292, 2015.

SAITOU, M.; YAMAJI, M. Primordial germ cells in mice. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 4, n. 11, 1 nov. 2012.

SCHMIDT, R. J.; SCHROEDER, D. I.; CRARY-DOOLEY, F. K.; BARKOSKI, J. M.; TANCREDI, D. J.; WALKER, C. K.; OZONOFF, S.; HERTZ-PICCIOTTO, I.; LASALLE, J. M. Self-reported pregnancy exposures and placental DNA methylation in the MARBLES prospective autism sibling study. **Environmental Epigenetics**, v. 2, n. 4, p. dvw024, 2016.

SCHUG, T. T.; ABAGYAN, R.; BLUMBERG, B.; COLLINS, T. J.; CREWS, D.; DEFUR, P. L.; DICKERSON, S. M.; EDWARDS, T. M.; GORE, A. C.; GUILLETTE, L. J.; HAYES, T.; HEINDEL, J. J.; MOORES, A.; PATISAUL, H. B.; TAL, T. L.; THAYER, K. A.; VANDENBERG, L. N.; WARNER, J.; WATSON, C. S.; VOM SAAL, F. S.; ZOELLER, R. T.; O'BRIEN, K. P.; MYERS, J. P. Designing Endocrine Disruption Out of the Next Generation of Chemicals. **Green Chem**, v. 15, n. 1, p. 181–198, 2013.

SCHUSSLER, G. C. The Thyroxine-Binding Proteins. **Thyroid**, v. 10, n. 2, p. 141–149, fev. 2000.

SENGUPTA, P.; BANERJEE, R. Environmental toxins. **Human & Experimental Toxicology**, v. 33, n. 10, p. 1017–1039, 17 out. 2014.

SHARPE, R. M.; IRVINE, D. S. How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 328, n. 7437, p. 447–51, 21 fev. 2004.

SHUKLA, Y.; TANEJA, P. Mutagenic evaluation of deltamethrin using rodent dominant lethal assay. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 467, n. 2, p. 119–127, 2000.

SINHA, R. A.; SINGH, B. K.; YEN, P. M. Thyroid hormone regulation of hepatic lipid and carbohydrate metabolism. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 25, n. 10, p. 538–545, 2014.

SKAKKEBAEK, N. E. Endocrine disrupters and testicular dysgenesis syndrome. **Hormone research**, v. 57 Suppl 2, n. suppl 2, p. 43, 2002.

SKINNER, M. K.; MANIKKAM, M.; TRACEY, R.; GUERRERO-BOSAGNA, C.; HAQUE, M.; NILSSON, E. E. Ancestral dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) exposure promotes epigenetic transgenerational inheritance of obesity. **BMC Medicine**, v. 11, n. 1, p. 228, 2013.

SKINNER, M. K. Endocrine disruptor induction of epigenetic transgenerational inheritance of disease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4262585/pdf/nihms618498.pdf>>. Acesso em: 28 set. 2017

SKINNER, M. K. Endocrine disruptors in 2015: Epigenetic transgenerational inheritance. **Nature Reviews Endocrinology**, p. 2–3, 2015.

SNEDEKER, S. M. Pesticides and breast cancer risk: A review of DDT, DDE and dieldrin. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. SUPPL. 1, p. 35–47, 2001.

STOUDER, C.; PAOLONI-GIACOBINO, A. Transgenerational effects of the endocrine disruptor vinclozolin on the methylation pattern of imprinted genes in the mouse sperm. **Reproduction**, v. 139, n. 2, p. 373–379, 1 fev. 2010.

SVINGEN, T.; RAMHØJ L.; MANDRUP, K.; CHRISTIANSEN, S.; AXELSTAD M.; VINGGAARD, A. M.; HASS, U. Effects on metabolic parameters in young rats born with low birth weight after exposure to a mixture of pesticides. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 305, 2018

THONGPRAKASANG, S.; THANTANAWAT, A.; RANGKADILOK, N.; SURIYO, T.; SATAYAVIVAD, J. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 129–136, 2013.

TU, W.; XU, C.; LU, B.; LIN, C.; WU, Y.; LIU, W. Acute exposure to synthetic pyrethroids causes bioconcentration and disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish embryos. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 876–885, 2016.

UE. Press release - Ban of phthalates in childcare articles and toys, 1999.

UNÜVAR, T.; BÜYÜKGEBİZ, A. Fetal and neonatal endocrine disruptors. **Journal of clinical research in pediatric endocrinology**, v. 4, n. 2, p. 51–60, 2012.

USDA. Pesticide Data Program | Agricultural Marketing Service. Encontrado em: <https://www.nass.usda.gov>

VAN MAELE-FABRY, G.; WILLEMS, J. L. Prostate cancer among pesticide applicators: A meta-analysis. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 77, n. 8, p. 559–570, 2004.

VANDENBERG, L. N.; COLBORN, T.; HAYES, T. B.; HEINDEL, J. J.; JACOBS, D. R.; LEE, D. H.; SHIODA, T.; SOTO, A. M.; VOM SAAL, F. S.; WELSHONS, W. V.; ZOELLER, R. T.; MYERS, J. P. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. **Endocrine Reviews**, v. 33, n. 3, p. 378–455, 2012.

VIEL, J.-F.; ROUGET, F.; WAREMBOURG, C.; MONFORT, C.; LIMON, G.; CORDIER, S.; CHEVRIER, C. Behavioural disorders in 6-year-old children and pyrethroid insecticide exposure: the PELAGIE mother–child cohort. **Occupational and Environmental Medicine**, p. oemed-2016-104035, 2017.

WAICHMAN, A. V. A problemática do uso de agrotóxicos no Brasil: a necessidade de construção de uma visão compartilhada por todos os atores sociais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 42–47, 2012.

WEI, B.; MOHAN, K. R.; WEISEL, C. P. Exposure of flight attendants to pyrethroid insecticides on commercial flights: Urinary metabolite levels and implications.

International Journal of Hygiene and Environmental Health, v. 215, n. 4, p. 465–473, jul. 2012.

WESCHLER, C. J. Changes in indoor pollutants since the 1950s. **Atmospheric Environment**, v. 43, n. 1, p. 153–169, 2009.

WHO. International Food Safety Authorities Network (INFOSAN) BISPHENOL A (BPA) - Current state of knowledge and future actions by WHO and FAO. n. November, p. 1–6, 2009.

WHO; FAO; ILO; UNDP; UNEP; UNIDO; UNITAR; WORLD BANK; OECD. Environmental Health Criteria No. 243 Aircraft disinsection insecticides. [s.l: s.n.].

WHO; IARC. List of Classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans, Volumes 1 to 119*.

XIANG, H.; NUCKOLS, J. R.; STALLONES, L. A Geographic Information Assessment of Birth Weight and Crop Production Patterns around Mother's Residence. **Environmental Research**, v. 82, n. 2, p. 160–167, 2000.

YAGLOVA, N. V; YAGLOV, V. V. [The effect of long-term exposure to low doses of endocrine disruptor ddt on serum levels of thyroid protein autoantigenes and antithyroid autoantibodies]. **Biomeditsinskaia khimiia**, v. 62, n. 1, p. 73–78, 2016.

YANG, O.; KIM, H. L.; WEON, J.-I.; SEO, Y. R. Endocrine-disrupting Chemicals: Review of Toxicological Mechanisms Using Molecular Pathway Analysis. **Journal of cancer prevention**, v. 20, n. 1, p. 12–24, 2015.

YE, X.; LI, F.; ZHANG, J.; MA, H.; JI, D.; HUANG, X.; CURRY, T. E.; LIU, W.; LIU, J. Pyrethroid Insecticide Cypermethrin Accelerates Pubertal Onset in Male Mice via Disrupting Hypothalamic–Pituitary–Gonadal Axis. **Environmental Science & Technology**, p. acs.est.7b02739, 2017.

YEUNG, B. H.; WAN, H. T.; LAW, A. Y.; WONG, C. K. Endocrine disrupting chemicals: Multiple effects on testicular signaling and spermatogenesis. **Spermatogenesis**, v. 1, n. 3, p. 231–239, jul. 2011.

ZAIM, M.; JAMBULINGAM, P.; WHO. Global insecticide use for vector-borne disease control / by M. Zaim and P. Jambulingam. [s.l: s.n.].

ZHANG, J.; HISADA, A.; YOSHINAGA, J.; SHIRAISHI, H.; SHIMODAIRA, K.; OKAI, T.; NODA, Y.; SHIRAKAWA, M.; KATO, N. Exposure to pyrethroids insecticides and serum levels of thyroid-related measures in pregnant women. **Environmental Research**, v. 127, p. 16–21, 2013.

ZHANG, J.; YOSHINAGA, J.; HISADA, A.; SHIRAISHI, H.; SHIMODAIRA, K.; OKAI, T.; KOYAMA, M.; WATANABE, N.; SUZUKI, E.; SHIRAKAWA, M.; NODA, Y.; KOMINE, Y.; ARIKI, N.; KATO, N. Prenatal pyrethroid insecticide exposure and thyroid hormone levels and birth sizes of neonates. **Science of the Total Environment**, v. 488–489, n. 1, p. 275–279, 2014.

ZHANG, Q.; ZHANG, Y.; DU, J.; ZHAO, M. Environmentally relevant levels of λ -cyhalothrin, fenvalerate, and permethrin cause developmental toxicity and disrupt

endocrine system in zebrafish (*Danio rerio*) embryo. **Chemosphere**, v. 185, p. 1173–1180, 2017.

ZIMMERMANN, M. B. Iodine deficiency. **Endocrine Reviews**, v. 30, n. 4, p. 376–408, 2009.