

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – CAMPUS DE
FRANCISCO BELTRÃO, CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS APLICADAS À
SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

MAIARA GRASIELA ROSSI

**ALTERAÇÕES NEUROIMUNOLÓGICAS INDUZIDAS PELA
EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A AGROTÓXICOS EM MULHERES
DA REGIÃO DO SUDOESTE DO PARANÁ**

FRANCISCO BELTRÃO - PR
DEZEMBRO/2022

MAIARA GRASIELA ROSSI

**ALTERAÇÕES NEUROIMUNOLÓGICAS INDUZIDAS PELA
EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL A AGROTÓXICOS EM MULHERES
DA REGIÃO DO SUDOESTE DO PARANÁ**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas à Saúde, nível Mestrado, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador(a): Dra. Dalila Moter Benvegnú

Co-orientador(a): Dra. Carolina Panis

FRANCISCO BELTRÃO - PR

DEZEMBRO/2022

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

Rossi, Maiara Grasiela

Alterações neuroimunológicas induzidas pela exposição ocupacional a agrotóxicos em mulheres da região do sudoeste do Paraná / Maiara Grasiela Rossi; orientadora Dalila Moter Benvegnú; coorientadora Carolina Panis. -- Francisco Beltrão, 2022.

89 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Francisco Beltrão) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2022.

1. Transtornos mentais. 2. Agrotóxicos. 3. Neuroimunológico. I. Benvegnú, Dalila Moter , orient. II. Panis, Carolina , coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

MAIARA GRASIELA ROSSI

**ALTERAÇÕES NEUROIMUNOLÓGICAS INDUZIDAS PELA EXPOSIÇÃO
OCUPACIONAL A AGROTÓXICOS EM MULHERES DA REGIÃO DO
SUDOESTE DO PARANÁ**

Essa dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em
Ciências Aplicadas à Saúde e aprovada em sua forma final pelo(a)
Orientador(a) e pela Banca Examinadora.

BANCA EXAMINADORA

Orientador (a): Prof (a). Dr (a). Dalila Moter Benvegnú
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE

Co-Orientador (a): Prof (a). Dr (a). Carolina Panis
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE

Membro da banca: Prof (a). Dr (a). Léia Carolina Lucio
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE

Membro da banca: Prof (a). Dr (a). Sara Marchesan de Oliveira
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA - UFSM

FRANCISCO BELTRÃO, PR
Dezembro/2022

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir viver esse sonho tão almejado e por me dispor força e coragem nessa trajetória cheia de obstáculos.

A conclusão de mais essa etapa em minha vida discorre de uma experiência única, repleta de altos e baixos, tropeços, fracassos, vitórias e superações, realmente em alguns momentos é como se estivesse em uma montanha russa. Justamente por esse motivo e como sempre, obtive apoio e incentivo de muitas pessoas importantes, como tal, agradeço da forma mais sincera, com todo meu coração.

Primeiramente aos meus pais Maria Luiza Braz e Francisco Rossi, minhas maiores referências de vida, desde criança me ensinaram a estudar e ser persistente com meus sonhos e objetivos, que nunca mediram esforços e segurando firme em minhas mãos me fizeram ser corajosa para encarar a velocidade dessa “montanha russa”, á vocês todo meu amor e o meu mais sincero muito obrigada, essa conquista é nossa. A toda minha família, meu irmão, cunhada, sobrinhos, avós, tios, primos, obrigada por me incentivarem e acreditarem no meu potencial, o apoio de vocês sempre me fez querer ser a melhor pessoa que eu pudesse.

À minha segunda família, meus amigos de apartamento Rodrigo Rabelo e Gislene Hillesheim, nossa amizade perdura por anos, e eu sigo grata pela presença incessante na minha vida, por ouvir meus desabafos e por me fazer continuar. Agradeço imensamente a minha colega e irmã Stephany Bonin, começamos juntas essa batalha, e ter você comigo foi incrível e fez tudo parecer mais fácil e satisfatório.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Dalila Moter Benvegnú, obrigada pela oportunidade desde o início desse sonho, sua paciência e disponibilidade, contribuiu para que ele se tornasse realidade. A minha co-orientadora Prof^a Dr^a Carolina Panis, essa pessoa de coração gigante, por nos disponibilizar material, tempo e conhecimento, o que a pandemia da COVID-19 nos tirou, você nos possibilitou.

Agradeço aos meus colegas do grupo de Bio Saúde Humana e Animal, e os membros do Laboratório de Biologia de Tumores, por toda troca de conhecimento, disponibilidade e ajuda.

Enfim, nesse momento de grande conhecimento pessoal e profissional, me mostro grata por todas as pessoas que de certa forma contribuíram para a conclusão dessa dissertação de mestrado, me estimulando de forma pessoal e profissional.

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação de mestrado á minha mãe Maria Luiza Braz, essa mulher sensacional que me instiga nas minhas maiores virtudes. Que Deus lhe conceda saúde e harmonia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figure 1: Vias de sinalização BDNF Trkb (THOMAZ, 2015).....	25
Figure 2: Mecanismos de sinapse colinérgica (SOARES, 2020)	29

LISTA DE TABELAS

Table 1: Studies selected for the literature review according to the selection methods. The works are arranged in chronological and ascending order on the date of their publication.	58
Table 2: T test for independent samples, visualized under the variables presented in the questionnaire answered by the analyzed population.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT: 5-hidroxitriptamina, serotonina
ABAP: 2,2'-azobis (2-amidinopropano)
Acetil Coa: Acetil coenzima A
AChE: Acetilcolinesterase
ACTH: Adrenocorticotrófico
BChE: Butirilcolinesterase
BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo
ChAT: Enzima acetiltransferase
CRF: Corticotrofinas
DA: Dopamina
DMS-V: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
EO: Estresse oxidativo
EPI: Equipamento de proteção individual
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL-1 β : Interleucina 1 β
IL-6: Interleucina 6
NE: Norepinefrina
OMS: Organização Mundial da Saúde
OPP: Organofosforados
PEVASPEA: Populações Expostas aos Agrotóxicos do Estado do Paraná
PNS: Segundo a pesquisa nacional de saúde
SINAN: Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SNC: Sistema nervoso central
SNP: Sistema nervoso periférico
TAG: Transtorno de Ansiedade Generalizada
TDM: Transtorno Depressivo Maior
TRAP: Capacidade Antioxidante Total Plasmática
QL: Quimioluminescência de alta sensibilidade

Alterações neuroimunológicas induzidas pela exposição ocupacional a agrotóxicos em mulheres da região do sudoeste do Paraná

Resumo

O Brasil é um dos grandes produtores agrícolas mundiais, em consequência disso, o uso de agrotóxicos no país também é destaque. Esses agroquímicos têm como função inibir pragas que prejudicam a plantaçaõ, intensificando assim a produçaõ. Em contrapartida, o contato com agrotóxicos pode trazer danos agudos e crônicos à saude humana. Desde residir próximo a plantaçoes, a prática de pulverizaçaõ e até lavagem de roupas após essa atividade, tem exposto de forma ocupacional moradores e trabalhadores rurais, que também por conta disso a cada ano mostram-se mais doentes, tornando esse contato ocupacional um grande problema para o serviço de saude pública. Um dos possíveis danos à saude humana decorrentes dessa exposiçaõ, está na desregulaçaõ do Eixo-Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal, que por si está diretamente associado ao surgimento de transtornos mentais, tais como ansiedade e depressão. Por esse motivo, este trabalho teve como objetivo, verificar qual a relaçaõ entre a exposiçaõ ocupacional a agrotóxicos e possíveis sinais e sintomas de transtornos depressivos, bem como seus biomarcadores neurológicos, além do perfil imunológico e endócrino de mulheres residentes na região do sudoeste paranaense, comparando grupo exposto de forma ocupacional a agrotóxicos e o grupo não exposto. Este estudo foi realizado com mulheres atendidas no Hospital do Câncer em Francisco Beltrão. As mulheres selecionadas foram aquelas que não apresentavam um diagnóstico de quaisquer tipos de neoplasias malignas, este critério de inclusãõ, buscou diminuir possíveis fatores de confusãõ do trabalho. As participantes foram divididas em grupos: expostas a agrotóxicos (n:51) e não expostas (n:49). Buscou-se entãõ contato com as participantes selecionadas, via ligaçaõ ou whatsapp, bem como envio do link do google questions com o questionário a ser respondido. Os questionários buscavam trazer respostas que pudessem analisar o perfil dessa exposiçaõ,

bem como sinais e sintomas de ansiedade e depressão (por meio da escala de HADS - Hospital Anxiety Depression Scale), ou também identificar aquelas mulheres já diagnosticadas por um profissional com algum desses transtornos mentais. A partir dessa etapa, foi analisado e mensurado no plasma das participantes, alguns biomarcadores que poderiam auxiliar nas respostas da pergunta inicial e traçar o perfil neuroimunológico desses indivíduos; biomarcadores como: Interleucina 6 (iL-6), Interleucina 1 β (il-1 β), Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo (BDNF) e o biomonitoramento da atividade colinesterásica. O resultado para os escores do questionário sugere que a exposição a agrotóxicos está correlacionada com o desenvolvimento de ansiedade e depressão na população agrícola. A análise dos marcadores biológicos mostrou diferenças estatísticas para a atividade da butirilcolinesterase (BuChE) e entre os grupos de mulheres expostas e não expostas a agrotóxicos. Conclui-se então por meio dos resultados obtidos por meio de questionários e medidas bioquímicas, observa-se que mulheres caracterizadas como expostas a esses produtos nocivos à saúde, apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de transtornos mentais, bem como ansiedade e depressão.

Palavras-chave: Transtornos Mentais, BDNF, Colinesterase, Citocinas.

Neuroimmunological changes induced by occupational exposure to pesticides in women in the southwest region of Paraná.

Abstract

Brazil is one of the world's major agricultural producers, as a result, the use of pesticides in the country is also highlighted. These agrochemicals have the function of inhibiting pests that harm the plantation, thus intensifying production. On the other hand, contact with pesticides can bring acute and chronic damage to human health. Since living near plantations, the practice of spraying and even washing clothes after this activity, has occupationally exposed residents and rural workers, who also because of this each year are more sick, making this occupational contact a major problem for the public health service. One of the possible damage to human health resulting from this exposure is the dysregulation of the hypothalamus axis, which in itself is directly associated with the emergence of mental disorders, such as anxiety and depression. For this reason, this study aimed to verify the relationship between occupational exposure to pesticides and possible signs and symptoms of depressive disorders, as well as their neurological biomarkers, in addition to the immunological and endocrine profile of women living in the Southwest region of Paraná, comparing an occupational and non-exposed group. This study was conducted with women attended at the Cancer Hospital in Francisco Beltrão, the selected women were those who did not present a diagnosis of any type of malignant neoplasms, which may be exposed to pesticides or not. We then sought through a questionnaire applied via telephone or whatsapp, answered through google questions, in order to analyze the profile of this exposure, as well as signs and symptoms of anxiety and depression (through the HADS scale), or also identify those women already diagnosed by a professional with any of these mental disorders. From this stage, some biomarkers were analyzed and measured in the plasma of the participants that could help answer the initial question and trace the neuroimmunological profile of these individuals; biomarkers such as: Interleukin 6 (iL-6), Interleukin 1 β (il-1 β), Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and biomonitoring of

cholinesterase activity. The result for the scores of the questionnaire suggests that exposure to pesticides is correlated with the development of anxiety and depression in the agricultural population. The analysis of biological markers showed statistical differences for the activity of butyrylcholinesterase (BuChE) and between the groups of women exposed and not exposed to pesticides. It is then concluded through the results obtained through questionnaires and biochemical measures, it is observed that women characterized as exposed to these products harmful to health, present increased risk for the development of mental disorders, as well as anxiety and depression.

Keywords: Mental Disorders, BDNF, Cholinesterase, Cytokines.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
1.2 Classificação dos agrotóxicos	18
1.3 Dados epidemiológicos	19
1.3.1 Dados epidemiológicos do contato ou contaminações a agrotóxicos	19
1.3.2 Dados epidemiológicos da ansiedade e depressão	20
1.4 Sinais e sintomas da ansiedade e depressão.....	21
1.5 Mecanismos neurobiológicos da ansiedade e depressão	22
1.5.1 Hipótese monoaminérgica	22
1.5.2 Disfunção do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal.....	23
1.5.3 Fator neurotrófico derivado do cérebro - BDNF.....	24
1.5.4 Citocinas.....	26
1.5.5 Biomonitoramento da atividade colinesterásica	28
1.6 Exposição a agrotóxicos e transtornos mentais.....	30
2. OBJETIVOS	31
2.1 Objetivo Geral	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
3. METODOLOGIA	32
3.1 Aspectos legais	32
3.2 Desenho do estudo	32
3.3 Instrumentos para coleta de dados.....	33
3.4 Técnicas e instrumentos para coleta sanguínea.....	34
3.5 Análises laboratoriais realizadas em amostras de plasma.....	34
3.5.3 Biomarcadores neuro-inflamatórios	35
4. REFERÊNCIAS	37
5. ARTIGO CIENTÍFICO 1	44
6. ARTIGO CIENTÍFICO 2	61
7. ANEXOS	75
7.1 ANEXO A	75
7.2 ANEXO B	77
7.3 ANEXO C	79
7.4 ANEXO D	89

1. INTRODUÇÃO GERAL

Com o objetivo de acrescer a produção agrícola, o uso de agrotóxicos se intensificou nas últimas décadas, a fim de prevenir ou eliminar pragas prejudiciais à produtividade, garantindo maior eficiência econômica do produto (TOMMASELLI, 2020).

Além disso, o uso desses agroquímicos trouxe ao meio rural maiores influências positivas, como: diminuição do trabalho braçal, a redução de custos das safras e aumento da quantidade de produção, permitindo ao agricultor maior produção, com menos perdas e menores esforços (BUSATO et al., 2019). Essas condições de facilidade, ligadas a desinformações sobre possíveis danos à saúde, por conta do contato prolongado à agrotóxicos, tem tornado o trabalho agrícola uma das profissões que mais colocam a vida do trabalhador em risco (COSTA; DA COSTA; HERRMANN, 2019).

Por conta desse intenso consumo, a Organização Mundial da Saúde (OMS), passou a publicar dados referentes à utilização de agrotóxicos no mundo. Dentro destes resultados, dar-se-á ênfase a um grande produtor agrícola e, também consumidor de agrotóxicos, o Brasil que está em segundo lugar como o país que mais utiliza agrotóxicos no mundo (DUTRA; FERREIRA, 2017).

O uso acentuado, combinado com o mau gerenciamento do consumo destes agroquímicos, resulta em um cenário preocupante para as questões ambientais e de saúde pública, pois, sua toxicidade está diretamente atrelada a influências negativas à saúde humana, bem como ao surgimento de doenças (RISTOW et al., 2020).

A exposição ocupacional, promovida pelo contato com pesticidas, na ausência parcial ou total de EPI (equipamentos de proteção individual), no momento da pulverização, preparação da calda ou armazenamento de frascos, aumenta o risco de contaminação por via cutânea ou respiratória (KAPELEKA et al., 2019). A ausência da utilização de EPI, uso incorreto ou de apenas alguns itens como, máscara, luva, roupa impermeável, promove maiores contaminações por vias cutâneas ou aéreas, podendo trazer agravos e complicações agudas e crônicas à saúde (MONQUERO; INÁCIO; SILVA, 2021).

Sabe-se que a exposição ocupacional gera agravos negativos à saúde, como: risco de desenvolvimento de vários tipos de câncer, obesidade, problemas reprodutivos, distúrbios genéticos, comprometimento do desenvolvimento embrionário-fetal, bem como, o desenvolvimento de transtornos mentais (ARCURY et al., 2009)

O surgimento de doenças agudas, crônicas, neurocomportamentais e transtornos mentais, bem como sua relação com a exposição ocupacional a agrotóxicos, tem sido bastante estudado por cientistas. A literatura já mostra isso, por meio de pesquisas que evidenciam agravos à saúde humana influenciadas pelo contato com agrotóxicos. Estudos por: (NETO; FORTES, 2006; ARCURY et al., 2009; FARIA, 2012; LOPES; ALBUQUERQUE, 2018; COSTA; BAPTISTA DA COSTA; HERRMANN, 2019; GIACOMET; DOMENICO; MASCARENHAS, 2021), corroboram a associação entre essa exposição com o surgimento de atrasos neurológicos e problemas neurocomportamentais.

Ressalta-se também que, os transtornos depressivos segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos mentais (DSM-V), são doenças comportamentais, com sintomas e períodos de duração singulares, onde a característica comum entre elas se dá pelo aparecimento de um humor triste, vazio ou irritável (“Psychiatry.org – DSM”, 2014).

Um transtorno mental bastante comum na população mundial é o transtorno de ansiedade generalizada (TAG), caracterizada por perturbações comportamentais relacionadas com medo e ansiedade excessivos, somatizados com sentimentos desagradáveis de apreensão (LOPES et al., 2020). Apesar de ocorrerem na maior parte das vezes de forma concomitante com a depressão os sintomas de ansiedade normalmente antecedem os sintomas depressivos (“Psychiatry.org – DSM”, 2014).

Outro transtorno classificado pelo DSM-V é o transtorno depressivo maior (TDM), depressão unipolar, e/ou até mesmo mais conhecido como depressão, se dá por pelo menos duas semanas seguidas de sintomas (sendo que, na maioria das pessoas, se prolongam por anos), tendo como característica as mudanças nítidas na afetividade, cognição, funções neurovegetativas e remissões interepisódicas (O’BRIEN, 2011).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estudos epidemiológicos mostram que TDM acometem cerca de 5% das pessoas no

cenário contemporâneo atual, (WHO, 2021) sendo o segundo maior problema de saúde pública do mundo, levando a incapacidade em muitos indivíduos acometidos pela doença (ONTARIO, 2017).

Por ser multifatorial a TDM é causada pela má interação entre aspectos biológicos, psicológicos e fatores ambientais, que acomete indivíduos e, conseqüentemente, dificulta atividades diárias básicas e relações sociais (LI et al., 2021).

Tendo em vista, a incidência de sinais e sintomas depressivos, bem como o índice de suicídio em trabalhadores rurais, sugere-se então que, seja estabelecido ou descartada a hipótese de que a exposição prolongada aos agrotóxicos pode vir a ser um fator de risco para o desenvolvimento de transtornos comportamentais como TAG ou TDM e que caracterizem ou não alterações endócrinas, neurológicas e imunológicas de indivíduos expostos e não expostos.

1.2 Classificação dos agrotóxicos

Os agrotóxicos são produtos de natureza química ou biológica, utilizados em setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, composto por uma mistura de substâncias, seu uso pode ser nocivo a saúde humana e trazer poluição ambiental (COMUNICACAO, 2020). Por isso Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) busca produzir informações, baseadas na rotulagem dos agrotóxicos comercializados no Brasil. Afim de estabelecer graus de toxicidade e impactos a saúde humana, promovidas pelo contato com esses insumos (LOPES, 2019).

A ANVISA estabelece critérios para a classificação desses produtos, baseados em efeitos tóxicos agudos via oral ou dérmica:

Classe I: Produtos extremamente tóxicos – Faixa vermelha

Classe II: Produtos altamente tóxicos – Faixa vermelha

Classe III: Produtos mediamente tóxicos – Faixa amarela

Classe IV: Produtos pouco tóxicos – Faixa azul

Classe V: Produto improvável de causar dano agudo – Faixa azul

Classe VI: Não classificado – Faixa verde (COMUNICACAO, 2020).

Com base nos critérios de classificação toxicológica de acordo com a portaria N° 03 de janeiro de 1992, observa-se alguns efeitos tóxicos promovidos por estes produtos:

Classe I: São extremamente tóxicos que em contato com a pele, vias aéreas e mucosas podem vir a provocar opacidade na córnea reversível ou não, bem como irritações persistentes e ulceração ou corrosão na pele.

Classe II: Altamente tóxicos podem desencadear irritações reversíveis em mucosas oculares reversíveis em até sete dias, irritações severas na pele.

Classe III: Moderadamente tóxicos onde o contato com a mucosa ocular pode provocar irritações reversíveis dentro de setenta e duas horas, além disso provocam irritações cutâneas moderadas.

Classe IV: Não costumam apresentar irritações leves na córnea, sendo reversíveis dentro de 24 horas, podem também apresentar irritações cutâneas leves (“Ministerio da saúde”, 1992).

1.3 Dados epidemiológicos

1.3.1 Dados epidemiológicos do contato ou contaminações a agrotóxicos

O Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos elaborado em 2018 pelo Ministério da Saúde, traz dados absolutos da comercialização de agrotóxicos no Paraná, que está em segundo lugar como o estado brasileiro que mais comercializa esses agroquímicos, sendo um valor de 226.673.775,99 kg (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Observa-se também, uma alta no consumo de agrotóxicos nos municípios que abrangem a 8ª Regional de Saúde do Paraná, tendo como média cerca de 3.978 toneladas entre os anos de 2011 e 2016. Acredita-se que, essa estimativa seja ainda maior, por conta da proximidade com fronteiras e a facilidade de contrabando desses agroquímicos (GABOARDI, 2019).

Um documento publicado pelo Plano de Vigilância e Atenção à Saúde de Populações Expostas aos Agrotóxicos do Estado do Paraná (PEVASPEA), mostra dados epidemiológicos do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), onde entre os anos de 2015 e 2019, onderegistrrou-se 1.717

casos de notificações por intoxicações exógenas à agrotóxicos relacionadas ao trabalho no Paraná (PEVASPEA, 2023).

Outros dados catalogados, pelo SINAN nesse mesmo período entre 2015 e 2019, relatam a notificação de 111 óbitos por circunstâncias intencionais, o que leva preocupação pelo do alto índice de suicídios, que teve como causa facilitadora o uso de agrotóxicos (JÚNIOR, 2020).

1.3.2 Dados epidemiológicos da ansiedade e depressão

Transtornos de ansiedade são bem comuns na população, pois, estima-se que aproximadamente 3,6% de indivíduos no mundo sofrem com TAG, sendo que esse valor não leva em consideração aquelas pessoas não diagnosticadas por um profissional da saúde, logo, acredita-se que essa estimativa seja ainda maior (SCHÖNHOFEN et al., 2020).

A depressão é um problema de saúde mundial, que acomete cerca 5% da população, com estimativa de mais de 290 milhões de casos novos por ano (GARCÍA-MONTERO et al., 2022). Segundo a pesquisa nacional de saúde (PNS, 2019) do ano de 2019, cerca de 10,2% (16,3 milhões) de pessoas maiores de 18 anos foram diagnosticadas com depressão, dados do sul do Brasil mostram-se maiores do que, os percentuais nacionais, sendo 15,2% de indivíduos acometidos (IBGE, 2020).

Levando em consideração que é uma doença multifatorial, a incidência e prevalência da doença varia conforme as populações, localidades, culturas e investimentos em saúde de cada país. Segundo dados revelados pelo autor Zezhi Li *et al.* (2021) em um apanhado geral realizado sobre a epidemiologia da depressão, a maior prevalência da doença ao longo da vida é de 16,9% nos EUA, 9,0% no Chile, 8,3% no Canadá e 1,0% na República Tcheca (LI et al., 2021). O Brasil tem cerca de 11.548.577 pessoas vivendo com depressão e com base nesse número o governo configura doenças mentais, como sendo, a terceira maior causa de afastamento de trabalhadores, necessitando de auxílio-doença por incapacidade laborativa (FEITOSA; FERNANDES, 2020).

Diante do número geral de indivíduos considerados depressivos, dados estatísticos mostram que, o número de mulheres depressivas é maior que o número de homens acometidos pela doença. E isso se dá pela herdabilidade,

além da vulnerabilidade a fatores externos, oscilação e desequilíbrio da ação de hormônios ovarianos, episódios prolongados e intensificados dos quais não puderam ser controlados de síndrome pré-menstrual, depressão pós-parto e pós-menopausa (GARCÍA-MONTERO et al., 2022).

1.4 Sinais e sintomas da ansiedade e depressão

Todo ser humano em algum momento da vida já passou por uma geração de estímulo que promove ansiedade, sejam eles bons ou ruins, sentimento esse designado normal, por constituir um ser vivo provido de emoções (LOPES; DOS SANTOS, 2018).

Algumas pessoas são geneticamente mais propensas a crises de ansiedade, porém, ela pode se intensificar e se tornar recorrente quando o indivíduo é submetido a um contexto de pressões e estresses diários. É nesse ponto em que as crises de ansiedades são caracterizadas com um CID, conhecida como TAG (SCHÖNHOFEN et al., 2020).

As principais e mais marcantes características da TAG, preocupações insistentes e excessivas, por diversos motivos importantes ou não, podem trazer irritabilidade, dificuldades com autocontrole, sono e concentração relacionadas ao meio profissional, familiar e escolar. Em muitos casos Indivíduos com TAG apresentam associados a isso, sintomas físicos como: inquietação ou sensação de nervos à flor da pele, fadiga, irritabilidade, tensão muscular (“Psychiatry.org - DSM”, 2014).

Já no TDM sintomas como humor deprimido na maior parte do tempo; perda de interesse ou prazer em realizar atividades; perda ou ganho de peso não intencional; insônia ou hipersonia; agitação ou retardo psicomotor; fadiga ou perda de energia; sentimentos de inutilidade e culpa; capacidade diminuída de concentração; pensamentos recorrentes de morte; com o período de duração de pelo menos duas semanas. (“Psychiatry.org - DSM”, 2014). O diagnóstico da doença é feito por um médico psiquiatra ou psicólogo, onde o profissional analisa esses sintomas descritos conforme o DSM-V (ONTARIO, 2017).

As causas e os fatores de risco deste transtorno não são completamente estabelecidos, mas levam em consideração traços genéticos e fatores externos biológicos e ambientais (DOBSON et al., 2021).

No entanto, doenças crônicas, traumas e eventos adversos recentes ou tardios, como luto e desaparego, interações medicamentosas, uso de álcool e drogas, contato ocupacional a agrotóxicos, podem levar a maior propensão ao surgimento da doença (ONTARIO, 2019).

Inflamação, estresse e depressão estão intimamente relacionados, o TDM não é apenas uma doença de fatores psicológicos, ela envolve bases neurobiológicas complexas. Por este motivo, os estudos da neurobiologia investigam a ação de níveis diminuídos de neurotransmissores como dopamina (DA), serotonina (5-HT) e noradrenalina (NE) (ROT; MATHEW; CHARNEY, 2009). Esses neurotransmissores são responsáveis por sistema de recompensa, humor, concentração e memória e, quando em desequilíbrio, somatizam com sintomas de tristeza e anedonia (DE ANDRADE et al., 2019).

1.5 Mecanismos neurobiológicos da ansiedade e depressão

1.5.1 Hipótese monoaminérgica

Neurotransmissores são compostos bioquímicos, sintetizados por neurônios que, por meio de sinapses, regulam atividades do Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP) (DE ANDRADE et al., 2019).

A serotonina (5-HT) é um desses neurotransmissores e, também conhecida como 5-hidroxitriptamina, é uma monoamina sintetizada a partir do triptofano e está diretamente ligada a regulações de humor, ansiedade, estresse, comportamento alimentar, sono e cognição. Por esse motivo, ela está sempre tão associada ao TDM. Em indivíduos depressivos, acontece uma diminuição da produção e liberação de neurotransmissores como a 5-HT, dopamina (DA), norepinefrina (NE) (SANTOS, 2016).

A DA é um neurotransmissor e mensageiro químico da família das catecolaminas presente e atuante no sistema nervoso central/SNC, produzido através de neurônios dopaminérgicos e sintetizada a base de tirosina. Assim

como, a 5-HT, a DA está diretamente ligada a transtornos mentais e muito associada a sensações de humor e prazer. Esse neurotransmissor é conhecido como a molécula da recompensa, sendo sua transmissão e expressão crucial para criar um estímulo motivacional (URBANO; GONZÁLEZA, 2016).

Outro neurotransmissor associado a transtornos mentais é a NE, também produzido por neurônios e importante na transmissão de sinais nervosos como humor, concentração atenção e memória. Em estados depressivos, além do declínio de 5-HT e DA, também existe diminuição dos índices de NE (DE ANDRADE et al., 2019).

A sintomatologia do TDM, está associada a humores deprimidos, anedonia, insônia ou hipersonia, distúrbios alimentares, sintomas esses altamente associados com a diminuição da síntese e/ou expressão desses três principais neurotransmissores (“Psychiatry.org - DSM”, 2014).

A indústria farmacêutica tem contribuído bastante com o objetivo de amenizar sinais e sintomas de pacientes depressivos, produzindo fármacos atuantes no SNC, mais precisamente como inibidores da recaptção da 5-HT (PEDRAZZA, 2007). Essa indústria não trabalha nisso sozinha, mas, sim de forma concomitante com profissionais das áreas da psiquiatria e psicologia, no desenvolvimento de terapias complementares, que visam a cura emocional. Além disso, a literatura também apresenta a importância de exercícios físicos regulares como terapia complementar no tratamento da depressão (VIEIRA; PORCU; ROCHA, 2007).

1.5.2 Disfunção do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal

O eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal (HPA) é um sistema que envolve cérebro e glândulas suprarrenais, sendo responsável pela resposta ao estresse. Sua ativação é altamente disfuncional quando foge das medidas essenciais ao organismo humano, causando imunossupressão, alterações na qualidade do sono e alimentação, bem como alterações de humor (BASTOS, 2011).

O cortisol é um hormônio esteroide, também conhecido como hormônio do estresse, encontrado em quase todos os sistemas orgânicos do corpo, como: respiratório, reprodutivo, imunológico, nervoso, cardiovascular, músculo esquelético e tegumentar. É responsável por mediar resposta ao estresse,

regular metabolismo e respostas imunológicas (THAU; GANDHI; SHARMA, 2021).

Quando o indivíduo é exposto a uma ação que gera estresse, o hipotálamo é hiperestimulado a produzir fatores liberadores do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), por sua vez atua nas glândulas supra-renais produzindo cortisol (BASTOS, 2011).

A hipercortisolemia promovida pela hiperatividade do eixo HPA está diretamente envolvida na neurobiologia da depressão, uma vez que, por meio deste desequilíbrio bioquímico ocorre episódios de tristeza, anedonia, distúrbios do sono e transtornos alimentares, desencadeando o TDM (SARAIVA; FORTUNATO, 2015).

Os hormônios desempenham um papel fundamental na expressão de comportamentos, isso influencia no seu potencial de contribuição para a fisiopatologia de transtornos mentais, onde o eixo HPA é responsável nas respostas a estímulos estressores em um organismo, por isso, anormalidades nesse eixo têm sido descritas por indivíduos que apresentam transtornos psiquiátricos (JURUENA; CLEARE; PARIANTE, 2004).

1.5.3 Fator neurotrófico derivado do cérebro - BDNF

Além do cortisol, o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) também é considerado um biomarcador importante de ansiedade e depressão. Trata-se de uma neurotrofina, crucial na bioquímica cerebral. Além disso, é responsável pelo crescimento, desenvolvimento e plasticidade neuronal, sendo um importante regulador da transmissão sináptica, que envolve funções emocionais e cognitivas (COLUCCI-D'AMATO; SPERANZA; VOLPICELLI, 2020).

O BDNF é amplamente expresso no SNC, biologicamente ativo e secretado por neurônios. Essa neurotrofina busca promover a sobrevivência e diferenciação neuronal, desempenhando um papel crítico na formação da memória e na regulação sináptica (MATTSON; MAUDSLEY; MARTIN, 2004).

Uma das proteínas mais investigadas como biomarcador de TDM é o BDNF. Nota-se que em pacientes psiquiátricos os níveis séricos dessa neurotrofina comumente analisada em sangue periférico encontram-se

diminuídas e bastante associadas aos sintomas desencadeados pela doença (FERNANDES et al., 2015).

Estímulos endógenos e exógenos ativam a expressão do gene do BDNF no meio neuronal, qual induz mecanismos de sinalização relacionados à sobrevivência. A liberação do BDNF pelo neurônio pré-sináptico e ligação deste no receptor TrkB do neurônio pós-sináptico ativa três vias de sinalização celular distintas (FIGURA 1) (GIACOBBO et al., 2019).

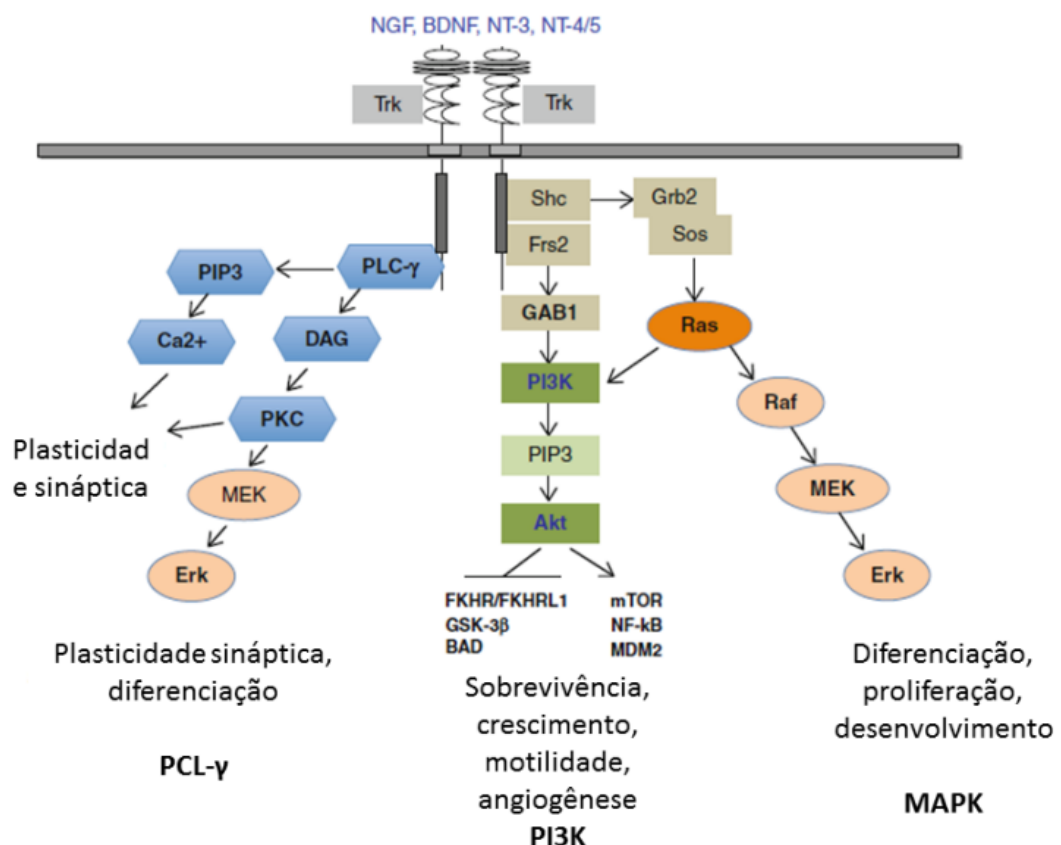


Figure 1: Vias de sinalização BDNF Trkb (THOMAZ, 2015)

TrkB são receptores de BDNF (proteínas transmembrana) localizados na membrana plasmática de um neurônio. O BDNF circula no fluído extracelular e eventualmente se ligará a um dímero da proteína (Trkb). Quando o BDNF se liga ao receptor Trkb, esses receptores se auto-fosforilam, permitindo a ativação de outras proteínas que podem ser recrutadas em relação a membrana, a partir do momento em que, o BDNF se liga ao receptor transmembranar Trkb, ele pode ativar duas principais vias de sinalização dessa neurotrofina, que por si irão

permitir crescimento celular, anti-apoptose, plasticidade neuronal e também alterações neuroplasmáticas. (COLUCCI-D'AMATO; SPERANZA; VOLPICELLI, 2020).

A primeira via de sinalização é a ativação da akt, que é ativada pela ligação do BDNF no receptor transmembranar Trkb, onde recruta proteínas para ligar-se à membrana (AROSIO, 2021). Essas proteínas recrutadas são Shc, Grb2, Sos, Gab, as quais através de ligações ligam-se a uma enzima PI3K, que por sua vez interage com a membrana plasmática. Essa enzima possui a função de catalisar uma reação fosfolipídica em membrana (VALVASSORI et al., 2017). A cascata de sinalização, ao chegar nesse ponto, recruta outra proteína chamada de PDK1 para a membrana, essa reação toda então age como quinase e fosforila akt que por sua vez promove a sobrevivência celular e a neuroplasticidade, por meio da indução de organelas nucleares que permitem a transcrição do DNA (SILVA, 2015).

A segunda via de sinalização também independente é ativada pela ligação do BDNF que se encontra em meio extracelular no seu receptor Trkb, onde também se tem o envolvimento das mesmas proteínas, as quais participaram da primeira sinalização, como visto acima como: Shc, Grb2, Sos e GAB1 (THOMAZ, 2015). Novamente fosforiladas essas proteínas, nesse caso GAB1 recruta uma proteína diferente para a membrana, chamada de Ras, que por sua vez é capaz de ativar Raf-1 (quinase), que fosforila ativando MEK (quinase), que também fosforila ativando ERK (quinase) (SILVA, 2015). A partir dessa cascata de quinases ativadas, acontece a fosforilação de um número de proteínas das quais a maioria são fatores de transcrição capazes de se translocar para o núcleo, ligar-se a genes específicos e regulá-los. Então basicamente esses genes são transcritos, traduzidos e expressos, o que permitirá maiores efeitos de sobrevivência, significando crescimento celular (VALVASSORI et al., 2017).

1.5.4 Citocinas

As citocinas são elementos fundamentais do sistema imunológico, porém, ao contrário do que se pensa, elas estão também presentes tanto no SNC quanto endócrino. Trata-se de um extenso grupo de polipeptídeos e glicoproteínas,

sintetizadas pelo sistema imune adaptativo e inato, que atuam como principais ativadores imunes encontrados em situações de estresse e, por isso, comumente chamadas de citocinas pró e/ou anti-inflamatórias (VISMARI; ALVES; PALERMO-NETO, 2008). Além disso, desempenham um importante papel regulador de sono, apetite, memória, comportamento sexual e atividade motora.

A literatura mostra uma forte ligação entre estresse psicológico e TDM, que pode ser desencadeada pela da hiperativação do eixo HPA e a síntese elevada de cortisol, bem como a produção de interleucina 6 (IL-6) também é significativamente maior em indivíduos que apresentam sintomas depressivos (TING; YANG; TSAI, 2020).

A IL-6 é uma citocina produzida por células multinucleadas, em especial monócitos, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos. Como desempenho da sua função a IL-6 atua nas respostas imunes adaptativa e inata como importante marcador inflamatório e mediador da febre (CAÑABATE, 2014). O aumento dos níveis de IL-6 no SNC estimula a produção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) no organismo, o que poderia estar relacionado a alterações comportamentais, por meio de alterações hormonais importantes (MARQUES; CIZZA; STERNBERG, 2007).

Tratando-se de imunoinflamação, se pode observar também grande influência da interleucina 1 β (IL-1 β), sintetizada por macrófagos, monócitos, fibroblastos e células dendríticas. A IL-1 β exerce sua função de forma pirógena e endógena, promovendo um efeito imunoestimulador sobre a síntese da IL-6, IL-8 e TNF (KRISHNAN et al., 2014, p. 1). Um organismo ao receber estímulos infecciosos ou inflamatórios, passa rapidamente a produzir IL-1 β , o que é essencial para a manutenção da imunidade adquirida, além de promover a síntese de outras citocinas, está relacionada com a ativação e migração de leucócitos, febre, vasodilatação, hematopoiese, ativação linfocitária e angiogênese (CERQUEIRA, 2017).

Essa citocina é importante mediadora na comunicação do sistema imune, endócrino e nervoso, atuante na modulação do HPA, bem como, no papel da neurotransmissão tratando-se de comportamentos doentios e depressivos (VILELA; JURUENA, 2014).

Observa-se que, o estresse é um grande fator neurotóxico e inflamatório que por si também instiga o estresse oxidativo (EO), onde em ações conjuntas desencadeiam processos crônicos de TDM (LAZZARI et al., 2014). Estudos mostram que sintomas depressivos e EO são fatores bidirecionais, ou seja, sintomas depressivos geram neuroinflamação e neuroinflamação geram sintomas depressivos (GUIMARÃES, 2016).

1.5.5 Biomonitoramento da atividade colinesterásica

Como comentado anteriormente, sobre os possíveis danos neurológicos causados pela exposição ocupacional a agrotóxicos, cientistas investigam biomarcadores dessa exposição para correlacionar com o surgimento de doenças, através disso, se busca mensurar e estabelecer níveis e atividades colinesterásicas (KAPELEKA et al., 2019). As colinesterases usualmente servem como biomarcador de neurotoxicidade, inflamação e envenenamento por pesticidas, portanto, as funções colinesterásicas na sua normalidade, são responsáveis pelo bom funcionamento fisiológico do organismo (SALDANHA, 2017).

Influências negativas à saúde humana por conta do contato ocupacional a agrotóxicos estão bem estabelecidos na literatura, especialmente em trabalhadores agrícolas. Através disso, pesquisadores buscam estimar contaminações crônicas e agudas por meios de biomarcadores sensíveis à exposição a pesticidas, como enzimas colinesterásicas, como a pseudocolinesterase plasmática, também denominada butirilcolinesterase (BChE) e acetilcolinesterase eritrocitária (AChE), as quais se encontram inibidas especialmente em detrimento da exposição a inseticidas organofosforados (OPP) e outros agrotóxicos (KAPELEKA et al., 2019).

A acetilcolina é um neurotransmissor encontrado em diversos tecidos, cuja função está diretamente relacionada à atenção e aprendizagem. A síntese desta molécula ocorre no interior de neurônios colinérgicos, sob ação da enzima acetiltransferase (ChAT), que une acetil coenzima A (Acetil Coa) e colina (Figura 2) que após sintetizadas são armazenadas em vesículas sinápticas. A acetilcolina permanece armazenada até que por meio de um potencial de ação promovido pelo neurônio colinérgico, ocorre a fusão da vesícula na parede

neuronal e liberação do neurotransmissor na fenda sináptica para desempenhar sua função (RAMÍREZ-SANTANA et al., 2015).

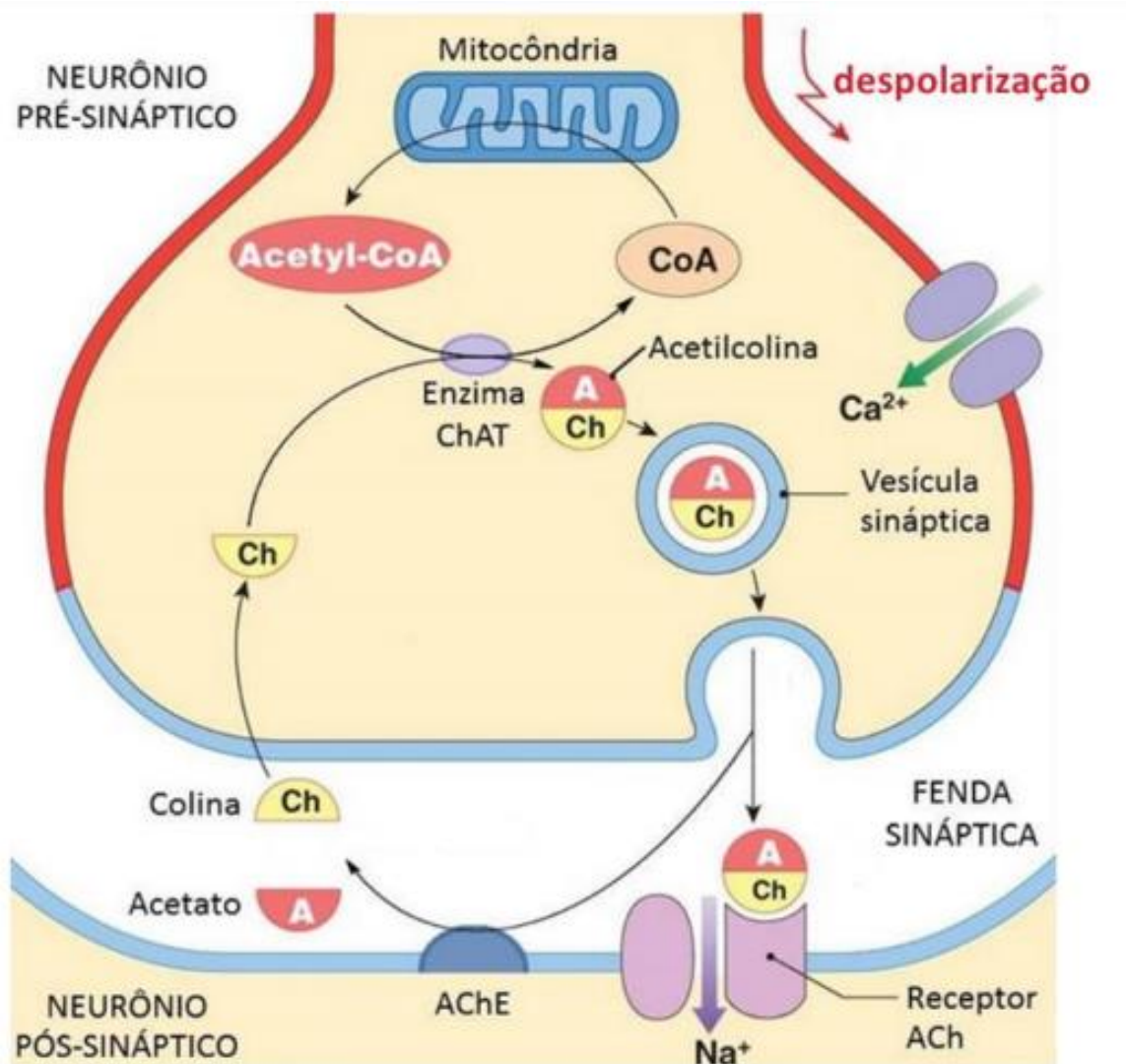


Figure 2: Mecanismos de sinapse colinérgica (SOARES, 2020)

Já a BChE ou AChE, são enzimas colinérgicas expressas em sinapses do sistema nervoso, promovendo uma regulação por meio de hidrólise catalítica do neurotransmissor acetilcolina, evitando o excesso deste na fenda sináptica, permitindo a regeneração do nervo periférico (FRANJESEVIC et al., 2019).

A mensuração da atividade colinesterásica é um importante biomarcador de exposição ocupacional a agrotóxicos, levando em consideração que a contaminação por meio destes agroquímicos inibe a enzima de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina, mantendo-o por mais tempo na fenda sináptica e

consequentemente impedido o desempenho da sua função (ARAÚJO et al., 2007; KAPELEKA, 2019).

1.6 Exposição a agrotóxicos e transtornos mentais

Na sociedade contemporânea em que a exposição de forma ocupacional a agrotóxicos, em especial organofosforados, tem se tornado grande problema de saúde pública, esse contato poderá desenvolver doenças agudas e/ou crônicas, que vão desde alergias até patologias mais graves como o desenvolvimento do câncer, defeitos congênitos, distúrbios endócrinos, hepáticos, imunológicos e neurológicos (PICCOLI et al., 2019).

Os agravos à saúde humana aumentam conforme o grau toxicológico desses produtos, combinados com os anos de exposição e o tipo de atividade desenvolvida por esses indivíduos que possuem contato direto e diário com agrotóxicos (CARRASCO et al., 2021).

O que mais preocupa médicos das áreas da neurologia e psiquiatria, psicólogos e terapeutas, além de pesquisadores da área da saúde, são o aumento de casos de ansiedade, depressão, Parkinson, autismo e demência, combinados com a exposição ocupacional a agrotóxicos de alguma forma, sendo ela por meio de pulverizações ou residências rurais (GIACOMET; DOMENICO; MASCARENHAS, 2021).

Intoxicações crônicas, por vias respiratórias, cutâneas ou mucosas, podem aumentar as chances de agravos à saúde mental em até 50%, já que, a exposição a essas substâncias é considerada acumulativa (CARRASCO et al., 2021).

O ser humano possui um SNC muito complexo e as relações neurobioquímicas precisam manter-se em equilíbrio para um bom funcionamento do organismo de forma geral. E essa exposição tão comentada neste trabalho, começa inviabilizando conexões sinápticas, inibindo a AChE de hidrolisar a acetilcolina, que se acumula na fenda sináptica, dificultando regulações de memórias, aprendizado e sono (ALVES et al., 2021) .

Além disso, as intoxicações por agrotóxicos promovem um desequilíbrio do eixo HPA, o qual rege a expressão de neurotransmissores (5-HT, NE, DA),

que exercem um papel importante no desenvolvimento da depressão maior (ROSA, 2013).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar qual a relação entre a exposição ocupacional a agrotóxicos e possíveis sinais e sintomas de transtorno mentais, bem como seus biomarcadores neurológicos, além do perfil imunológico e endócrino de mulheres residentes na região do Sudoeste paranaense.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil de exposição ocupacional a agrotóxicos e estado de saúde;
- Verificar o nível de exposição a agrotóxicos por meio de questionários específicos e da atividade da enzima butirilcolinesterase plasmática;
- Analisar possíveis sinais e sintomas de transtornos mentais (ansiedade e depressão) através de questionário;
- Avaliar o cortisol salivar matinal, como biomarcador de estresse e sua relação com mediadores inflamatórios, bem como sinais e sintomas de ansiedade e depressão;
- Investigar o perfil de mediadores do processo inflamatório como interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 β (IL-1 β) e relacionar com ansiedade e depressão;
- Mensurar os níveis plasmáticos do biomarcador neurológico fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e sua relação com sinais e sintomas de transtornos mentais;
- Mensurar a capacidade antioxidante total plasmática (TRAP) e a lipoperoxidação plasmática, via quimioluminescência de alta sensibilidade (QL);
- Relacionar o nível de exposição a agrotóxicos com sinais e sintomas de transtornos mentais, bem como com os biomarcadores supracitados.

3. METODOLOGIA

3.1 Aspectos legais

Este estudo tem caráter retrospectivo e prospectivo, envolvendo coleta de dados primários, a partir de mulheres residentes em municípios da região Sudoeste do Paraná, atendidas no Hospital do Câncer de Francisco Beltrão - PR (CEONC), entre os anos de 2015 a 2022. Foram selecionadas apenas mulheres que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), estabelecidos no anexo I e II.

O projeto encontra-se aprovado pelo comitê de ética da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) sob o número CAAE 35524814.4.0000.0107, parecer número 4.592.132 (ANEXO I).

3.2 Desenho do estudo

Foram selecionadas para o estudo 184 mulheres, maiores de 18 anos, atendidas no CEONC da cidade de Francisco Beltrão - PR, caracterizadas pela ausência de neoplasias malignas de mama. A partir disso, as mulheres participantes foram alocadas em dois grupos, sendo elas diretamente expostas e não expostas a agrotóxicos (Figura 3). A triagem se iniciou com um número total de 655 participantes, sendo que a partir de critérios de inclusão e exclusão optou-se por estudar apenas 184 delas. Os critérios que permitiram a inclusão de mulheres no estudo foi primeiramente a disponibilidade do material, sendo assim, as mulheres participantes selecionadas, precisariam ter material biológico como plasma e saliva disponíveis e já coletados para as análises laboratoriais do presente estudo. Outro critério de inclusão foi a presença do número de contato das mesmas, a fim de que os pesquisadores pudessem contatá-las via telefone ou whatsapp para a aplicação de questionários.

No grupo caracterizado pela exposição ocupacional a agrotóxicos foi possível a inclusão de 98 mulheres que possuem atividade rural de pulverização, tanto em culturas como em tratamento de animais com pesticidas ou atividades domésticas em lavagem de roupas após pulverização, bem como aquelas

apenas residentes do meio rural. O grupo de não exposição a agrotóxicos foi composto por 84 participantes que não praticam nenhuma dessas atividades e ainda residem no meio urbano de suas cidades.

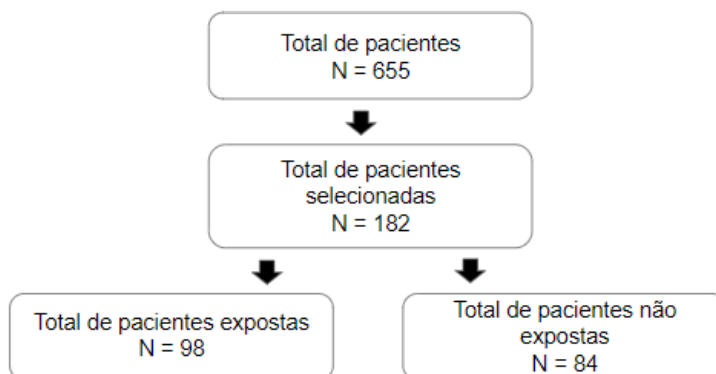


Figura 03: Desenho do estudo.

3.3 Instrumentos para coleta de dados

A primeira etapa da pesquisa foi norteada a partir da coleta de dados em prontuários médicos, como: localidade, idade, peso, altura, IMC, exposição a agrotóxicos e paciente não oncológica.

A segunda etapa da pesquisa foi por meio de um questionário criado via google forms e aplicado via telefone ou whatsapp, que teve por finalidade avaliar dados socioeconômicos, estilo de vida e estado geral de saúde. Para as mulheres do meio rural também foram levantados dados de aspectos relacionados à propriedade rural, como: atividades ocupacionais diárias, tipo, tempo, frequência e modo de exposição a agrotóxicos, relato de intoxicações e sintomas associados.

Foi aplicada a ferramenta pré-estabelecida e autorreferida denominada HADS (*Hospital Anxiety Depression Scale*) - Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão, responsável por avaliar sinais e sintomas relacionados à ansiedade e depressão (MARCOLINO et al, 2007). Esta ferramenta de coleta de dados foi desenvolvida a princípio com intuito de identificar os sintomas em pacientes de hospitais clínicos psiquiátricos, sendo posteriormente empregada em outros tipos de indivíduos, como em pacientes não-internados e até mesmo em

indivíduos sem indícios de tais doenças. A escala foi simplificada em 14 itens, subdivididos em subescala de ansiedade e de depressão. Segundo Zigmond e Snaith, (1983) recomenda-se dois pontos de corte para serem considerados em ambas as subescalas, onde ocorrências possíveis são pontuadas superior a 8 e casos prováveis, superior a 11 pontos. Ainda, foi sugerido um terceiro ponto de corte, no qual distúrbios graves apresentam pontuação superior a 15.

Esta coleta de dados não foi possível de ser realizada de modo presencial, uma vez que o estudo ocorreu durante a pandemia da COVID-19.

3.4 Técnicas e instrumentos para coleta sanguínea

As coletas sanguíneas foram realizadas no momento da obtenção de amostra biológica de sangue ainda no centro cirúrgico do CEONC, por profissionais atuantes. Foram utilizados luvas descartáveis, garrotes, álcool 70%, algodão, curativos, seringas e agulhas descartáveis. Para tal, o participante foi orientado sobre a coleta sanguínea e posteriormente foi efetuada a palpação no seu antebraço, assepsia e punção venosa, para coleta de 4 mL de sangue. O material coletado foi disposto em tubos contendo o anticoagulante EDTA. Para processamento do sangue as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 4000 rpm, os sobrenadantes (plasma) coletados e armazenados a -20° C, em freezer na UNIOESTE até o momento de realização de cada análise.

3.5 Análises laboratoriais realizadas em amostras de plasma

3.5.1 Biomarcador de exposição ocupacional

A atividade da enzima butirilcolinesterase (BchE) foi mensurada em amostras de plasma, por meio do método proposto por Ellman *et al.* (1961), adaptado por Rhee *et al.* (2001) e Jonca *et al.* (2015). O produto da reação, entre o substrato acetilcolina e a enzima butirilcolinesterase, denominado tiocolina, reage com o ânion do 5,5-ditio-bis-ácido-nitrobenzóico (DTNB), produzindo um ânion de coloração amarela que pode ser mensurado espectrofotometricamente em 412 nm.

3.5.2 Níveis plasmáticos de hidroperóxidos

A determinação dos níveis de hidroperóxidos oriundos da peroxidação lipídica foi realizada por meio de técnica de quimioluminescência de alta sensibilidade (QL), conforme descrito por Flecha et al. (1991) e adaptado por Panis et al. (2012), envolvendo reação mediada por tert-butil. Inicialmente utilizou-se 855µl de tampão fosfato monobásico (10mM, pH 7,4) e alíquotas de 125µl de plasma das mulheres participantes do estudo. A reação teve início pela adição de 20µl de solução de tert-butil (3 mM), a qual foi monitorada via aparelho Glomax 20/20 (Promega, USA), buscando avaliar a emissão de fótons. Através de cada valor obtido foi realizado o cálculo da integral da curva de emissão, para expressar os resultados em unidades relativas de luz (RLU).

3.5.3 Biomarcadores neuro-inflamatórios

3.5.3.1 Citocinas

Técnica mensurada através de kit imunoenzimáticos, realizadas na UFFS - Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Realeza, pela equipe do grupo de BioSaúde Humana e Animal no laboratório de bioquímica.

3.5.3.2 Interleucina 1 β e Interleucina 6

Para a quantificação dos níveis plasmáticos das citocinas IL-1 β e IL-6, utilizou-se o método de kit's imunoensaio enzimático (ELISA - *Enzyme-linked immunosorbent Assay*) por meio de kit comercial. As alíquotas de plasma foram incubadas em placas já pré-estabelecidas com anticorpos de captura específico para cada citocina de forma independente. Após tempo necessário de espera, as placas foram submetidas a sucessivas lavagens e nova incubação com anticorpo secundário marcado com estreptavidina. Após este processo, foi

adicionado substrato específico e a placa então foi submetida a leitura em leitora de microplaca a uma absorbância de 642 nm. Os resultados emitidos pelo equipamento foram calculados em pg/mL a partir de dados de uma curva padrão para cada citocina mensurada. O limite de detecção de cada kit foi de 2 pg/mL.

3.5.3.3 Mensuração do Fator neurotrófico derivado do cérebro BDNF

Técnica realizada na UFFS - Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Realeza, mensurada através de kit imunoenzimático. O kit BDNF humano ELISA fabricado pelo laboratório INVITROGEN detecta e quantifica o nível do BDNF humano em sobrenadantes do plasma de mulheres, onde os resultados são expressos em ng/mL. Os níveis de BDNF encontrados no plasma sanguíneo estão correlacionados com o SNC, tendo em vista que essa neurotrofina consegue atingir livremente a corrente sanguínea.

4. REFERÊNCIAS

AAN HET ROT, M.; MATHEW, S. J.; CHARNEY, D. S. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal*, v. 180, n. 3, p. 305–313, 3 fev. 2009.

ALVES, H. H. F. et al. The acetylcholinesterase as indicative of intoxication for pesticide in farmers of conventional and organic cultivation/A acetilcolinesterase como indicativo de intoxicacao por pesticidas em agricultores de cultivo convencional e organico. *Brazilian Journal of Biology*, v. 81, n. 3, p. 632–642, 1 jul. 2021.

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

ARCURY, T. A. et al. Reducing Farmworker Residential Pesticide Exposure: Evaluation of a Lay Health Advisor Intervention. *Health promotion practice*, v. 10, n. 3, p. 447, jul. 2009.

BUSATO, M. A. et al. USO E MANUSEIO DE AGROTÓXICOS NA PRODUÇÃO DE ALIMENTOS DA AGRICULTURA FAMILIAR E SUA RELAÇÃO COM A SAÚDE E O MEIO AMBIENTE. *HOLOS*, v. 1, p. 1–9, 3 dez. 2019.

CARRASCO, L. M. C. M. et al. A influência da exposição a Agrotóxicos para o desenvolvimento da depressão: uma revisão sistemática. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 15, p. e502101523166–e502101523166, 2 dez. 2021.

COLUCCI-D'AMATO, L.; SPERANZA, L.; VOLPICELLI, F. Neurotrophic Factor BDNF, Physiological Functions and Therapeutic Potential in Depression, Neurodegeneration and Brain Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 20, out. 2020.

COSTA, S.; BAPTISTA DA COSTA, M. B.; HERRMANN, H. Responsabilidade civil diante dos impactos causados por exposição aos agrotóxicos à saúde humana. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, v. 22, n. 2, p. 77–91, 2019a.

COSTA, S.; BAPTISTA DA COSTA, M. B.; HERRMANN, H. Responsabilidade civil diante dos impactos causados por exposição aos agrotóxicos à saúde humana. *Revista Brasileira Multidisciplinar*, v. 22, n. 2, p. 77–91, 2019b.

DE ANDRADE, R. V. et al. Atuação dos Neurotransmissores na Depressão. p. 4, 2019.

DIAS LOPES, L. F. et al. Analysis of Well-Being and Anxiety among University Students. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 11, p. 3874, jan. 2020.

DINIZ, J. P.; NEVES, S. A. DE O.; VIEIRA, M. L. Ação dos Neurotransmissores Envolvidos na Depressão. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, v. 24, n. 4, p. 437–443, 2 dez. 2020a.

DINIZ, J. P.; NEVES, S. A. DE O.; VIEIRA, M. L. Ação dos Neurotransmissores Envolvidos na Depressão. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, v. 24, n. 4, p. 437–443, 2 dez. 2020b.

DOBSON, E. T. et al. Bridging Anxiety and Depression: A Network Approach in Anxious Adolescents. *Journal of affective disorders*, v. 280, n. Pt A, p. 305, 2 fev. 2021.

DUTRA, L. S.; FERREIRA, A. P. Associação entre malformações congênitas e a utilização de agrotóxicos em monoculturas no Paraná, Brasil. *Saúde em Debate*, v. 41, p. 241–253, jun. 2017.

ERTA CAÑABATE, M. Role of astrocytic IL-6 and IL-6R in normal physiology and neuroinflammation. [s.l.] Universitat Autònoma de Barcelona, 2014.

FARIA, N. M. X. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: prioridades para uma agenda de pesquisa e ação. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, v. 37, p. 31–39, jun. 2012.

FEITOSA, C. D. A.; FERNANDES, M. A. Leave of absence due to depression. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 28, 2020.

FERNANDES, B. S. et al. Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a biomarker in bipolar disorder: a meta-analysis of 52 studies. *BMC Medicine*, v. 13, 2015.

FRANCISCO J. URBANO, V. B.; BETINA GONZÁLEZA. Cognitive enhancers versus addictive psychostimulants: The good and bad side of dopamine on prefrontal cortical circuits. *Pharmacological Research*, v. 109, p. 108–118, 1 jul. 2016.

FRANJESEVIC, A. J. et al. Resurrection and Reactivation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, v. 25, n. 21, p. 5337, 4 abr. 2019a.

FRANJESEVIC, A. J. et al. Resurrection and Reactivation of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, v. 25, n. 21, p. 5337, 4 abr. 2019b.

GARCÍA-MONTERO, C. et al. The Problem of Malnutrition Associated with Major Depressive Disorder from a Sex-Gender Perspective. *Nutrients*, v. 14, n. 5, mar. 2022a.

GARCÍA-MONTERO, C. et al. The Problem of Malnutrition Associated with Major Depressive Disorder from a Sex-Gender Perspective. *Nutrients*, v. 14, n. 5, mar. 2022b.

GIACOBBO, B. L. et al. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Brain Disorders: Focus on Neuroinflammation. *Molecular Neurobiology*, v. 56, n. 5, p. 3295, 2019.

GIACOMET, C. T.; DOMENICO, C. R. D.; MASCARENHAS, M. Agrotóxicos e alterações neurocomportamentais: uma revisão de literatura. *Revista Perspectiva*, v. 45, n. 169, p. 7–19, 18 maio 2021.

JOSÉ TADEU GARCIA TOMMASELLI, F. H. C. J. CONDIÇÕES METEOROLÓGICAS DO PONTAL DO PARANAPANEMA E AS PULVERIZAÇÕES AÉREAS DE AGROTÓXICOS | Camargo Jardim | Formação (Online). Disponível em: <<https://revista.fct.unesp.br/index.php/formacao/article/view/6607>>. Acesso em: 12 jun. 2022.

JÚNIOR, C. R. M. SECRETÁRIO DE ESTADO DA SAÚDE Carlos Alberto Gebrim Preto. p. 105, 2020.

JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J.; PARIANTE, C. M. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 26, p. 189–201, set. 2004.

KAPELEKA, J. A. et al. Biomonitoring of Acetylcholinesterase (AChE) Activity among Smallholder Horticultural Farmers Occupationally Exposed to Mixtures of Pesticides in Tanzania. *Journal of Environmental and Public Health*, v. 2019, 2019a.

KAPELEKA, J. A. et al. Biomonitoring of Acetylcholinesterase (AChE) Activity among Smallholder Horticultural Farmers Occupationally Exposed to Mixtures of Pesticides in Tanzania. *Journal of Environmental and Public Health*, v. 2019, 2019b.

LAZZARI, A. M. et al. Interleukin--1β production and severity of mastitis post-inoculation of Staphylococcus aureus in the mammary gland of bovines and bubalines/Producao de interleucina--1beta e severidade da mastite pos-inoculacao de Staphylococcus aureus na glandula mamaria de bovinos e bubalinos. *Ciencia Rural*, v. 44, n. 10, p. 1816–1823, 1 out. 2014.

LI, Z. et al. Major Depressive Disorder: Advances in Neuroscience Research and Translational Applications. *Neuroscience Bulletin*, v. 37, n. 6, p. 863, jun. 2021a.

LI, Z. et al. Major Depressive Disorder: Advances in Neuroscience Research and Translational Applications. *Neuroscience Bulletin*, v. 37, n. 6, p. 863, jun. 2021b.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. DE. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde em Debate*, v. 42, p. 518–534, jun. 2018.

MARQUES, A. H.; CIZZA, G.; STERNBERG, E. Interações imunocerebrais e implicações nos transtornos psiquiátricos. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 29, p. s27–s32, maio 2007.

MATTSON, M. P.; MAUDSLEY, S.; MARTIN, B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends in Neurosciences*, v. 27, n. 10, p. 589–594, 1 out. 2004.

MONQUERO, P. A.; INÁCIO, E. M.; SILVA, A. C. LEVANTAMENTO DE AGROTÓXICOS E UTILIZAÇÃO DE EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL ENTRE OS AGRICULTORES DA REGIÃO DE ARARAS. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 76, p. 135–139, 28 maio 2021.

NETO, M. G. F.; FORTES, F. A. M. Intoxicação por agrotóxicos e surgimento de depressão: um estudo de caso. p. 19, 2006.

O'BRIEN, C. Addiction and dependence in DSM-V. *Addiction*, v. 106, n. 5, p. 866–867, 2011.

ONTARIO, H. Q. Psychotherapy for Major Depressive Disorder and Generalized Anxiety Disorder: A Health Technology Assessment. *Ontario Health Technology Assessment Series*, v. 17, n. 15, p. 1, 2017a.

ONTARIO, H. Q. Psychotherapy for Major Depressive Disorder and Generalized Anxiety Disorder: A Health Technology Assessment. *Ontario Health Technology Assessment Series*, v. 17, n. 15, p. 1, 2017b.

ONTARIO, H. Q. Internet-Delivered Cognitive Behavioural Therapy for Major Depression and Anxiety Disorders: A Health Technology Assessment. Ontario Health Technology Assessment Series, v. 19, n. 6, p. 1, 2019.

PICCOLI, C. et al. Occupational exposure to pesticides and hematological alterations: A survey of farm residents in the South of Brazil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 24, p. 2325–2340, 27 jun. 2019.

Psychiatry.org - DSM. Disponível em: <<https://psychiatry.org:443/psychiatrists/practice/dsm>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

RAMÍREZ-SANTANA, M. et al. Assessing biomarkers and neuropsychological outcomes in rural populations exposed to organophosphate pesticides in Chile – study design and protocol. *BMC Public Health*, v. 15, 2015.

REIS, N. N. et al. Depressão e exposição aos agrotóxicos em pequenas agricultoras no oeste do Paraná. *Revista de Saúde Pública do Paraná*, v. 4, n. 2, p. 13–24, 18 ago. 2021a.

REIS, N. N. et al. Depressão e exposição aos agrotóxicos em pequenas agricultoras no oeste do Paraná. *Revista de Saúde Pública do Paraná*, v. 4, n. 2, p. 13–24, 18 ago. 2021b.

REIS, N. N. et al. Depressão e exposição aos agrotóxicos em pequenas agricultoras no oeste do Paraná. *Revista de Saúde Pública do Paraná*, v. 4, n. 2, p. 13–24, 18 ago. 2021c.

REPETTO, M. et al. Oxidative stress in blood of HIV infected patients. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, v. 255, n. 2, p. 107–117, 29 nov. 1996.

RISTOW, L. P. et al. Fatores relacionados à saúde ocupacional de agricultores expostos a agrotóxicos. *Saúde e Sociedade*, v. 29, 18 maio 2020a.

RISTOW, L. P. et al. Fatores relacionados à saúde ocupacional de agricultores expostos a agrotóxicos. *Saúde e Sociedade*, v. 29, 18 maio 2020b.

ROSA, J. G. S. Efeitos do organofosforado parationato metílico sobre o eixo hipotálamo-hipófise-interrenal em peixe-zebra (*Danio rerio*). 18 abr. 2013.

SALDANHA, C. Human Erythrocyte Acetylcholinesterase in Health and Disease. *Molecules*, v. 22, n. 9, p. 1499, set. 2017.

SANTOS, J. F. A INFLUÊNCIA DA SEROTONINA NA FISIOLOGIA DA DEPRESSÃO. p. 90, 2016.

SARAIVA, E. M.; FORTUNATO, J. M. S. OSCILAÇÕES DO CORTISOL NA DEPRESSÃO E SONO/VIGÍLIA. V O L U M E, p. 13, 2015.

SILVA, I. C. B. DA. Análise do perfil de metilação da região promotora dos genes BDNF e SLC6A4 em pacientes com epilepsia do lobo temporal. 2015a.

SILVA, I. C. B. DA. Análise do perfil de metilação da região promotora dos genes BDNF e SLC6A4 em pacientes com epilepsia do lobo temporal. 2015b.

SOARES, F. A. Síntese, fotofísica e modelagem molecular de compostos tendo como alvos as enzimas colinesterases e a proteína bsa. 2020.

THAU, L.; GANDHI, J.; SHARMA, S. Physiology, Cortisol. [s.l.] StatPearls Publishing, 2021.

THOMAZ, A. C. G. Avaliação do papel da sinalização por BDNF/TRKB na viabilidade e sobrevivência de células de meduloblastoma humano. 2015.

TING, E. Y.-C.; YANG, A. C.; TSAI, S.-J. Role of Interleukin-6 in Depressive Disorder. International Journal of Molecular Sciences, v. 21, n. 6, mar. 2020.

VISMARI, L.; ALVES, G. J.; PALERMO-NETO, J. Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema. Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo), v. 35, p. 196–204, 2008.

WHO. Depression. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

CERQUEIRA, D. R. D. ESTUDO DOS EFEITOS DA INTERLEUCINA-1BETA NOS NÚCLEOS CENTRAL E MEDIAL DA AMÍGDALA SOBRE O APETITE POR SÓDIO E O PAPEL DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO CENTRAL. p. 123, 2017.

GUIMARÃES, A. B. B. UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ FACULDADE DE MEDICINA DEPARTAMENTO DE CIRURGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS MÉDICO-CIRÚRGICAS. p. 76, 2016.

KEYLA CRYSTINA DA SILVA PEREIRA LOPES; WALQUIRIA LENE DOS SANTOS. Transtorno de ansiedade. Revista de Iniciação Científica e Extensão, v. 1, n. 1, p. 45–50, 2018.

KRISHNAN, S. M. et al. IL-1 β and IL-18: inflammatory markers or mediators of hypertension? *British journal of pharmacology*, v. 171, n. 24, p. 5589–5602, 2014.

SCHÖNHOFEN, F. DE L. et al. Transtorno de ansiedade generalizada entre estudantes de cursos de pré-vestibular. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 69, p. 179–186, 22 jun. 2020.

VALVASSORI, S. S. et al. The different effects of lithium and tamoxifen on memory formation and the levels of neurotrophic factors in the brain of male and female rats. *Brain Research Bulletin*, v. 134, p. 228–235, set. 2017.

VILELA, L. H. M.; JURUENA, M. F. Avaliação do funcionamento do eixo HPA em deprimidos por meio de medidas basais: revisão sistemática da literatura e análise das metodologias utilizadas. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 63, p. 232–241, set. 2014.

5. ARTIGO CIENTÍFICO 1

REVIEW ARTICLE

Occupational Exposure to pesticides and the Occurrence of Mental Disorders: A Systematic Review of the Literature

Declaration of conflicts of interest: The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract

Pesticides use has allowed an increase in food productivity. However, harmful effects on human health have been reported, such as mental illness, especially in the rural population. In this context, the present work systematically reviewed the literature on the occurrence of depressive and anxiogenic disorders in farmers occupationally exposed to pesticides. The guidelines recommended by PRISMA were adopted, using the PICO strategy. The platforms used for the search were PUBMED, SCOPUS, and Google Scholar, with works published since 2002 to 2020. The inclusion criteria adopted considered cross-sectional and longitudinal studies, published only in English, whose investigation evaluated human exposure to pesticides and the occurrence of mental illness. After applying the inclusion filters, nine studies were selected. The combined studies reported that 5.681 farmers were occupationally exposed to pesticides. The main illnesses reported were depression and/or anxiety, accompanied by symptoms such as headaches, respiratory diseases, and mental fatigue. Despite the incidence of other factors such as cigarette use, lack of personal protective equipment, and socioeconomic components, occupational exposure to pesticides is directly associated with depression. It was also noted that the intensity, frequency, and duration of exposure if combined with the number of acute intoxications, potentiates the development of depressive conditions.

Keywords: Pesticides; Agrochemicals; Mental illness; Mental disturbances; Depression; Anxiety.

Introduction

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Brazil ranked third as a consumer of pesticides globally, behind only China and the United States. However, when considering consumption per hectare, Brazil falls to 25th place, using about 0.28 kilograms of pesticides per ton of agricultural products. Observing a scale of the number of pesticides applied per cultivated area over the years, we observe an increase from 1 to 4.3 kg/hectare from 1991 to 2015, respectively. ^[1] In addition, it was found that the rise in the consumption of pesticides in Brazil was higher than in the world, with values even higher than in the United States and some European countries. ^[2]

The toxicity generated by exposure to pesticides is worrying because it is directly linked to the emergence of serious diseases that reflect public health problems. ^[3] Occupational exposure by rural workers is characterized as chronic and prolonged, with a high risk of contamination through the skin or respiratory tract due to partial or total absence of use of personal protective equipment (PPE) during the handling of pesticides. ^[4]

Thus, the World Health Organization (WHO) began to publish data regarding the possible negative impacts of pesticides on the health of occupationally exposed populations, including depression, anxiety, suicidal tendencies, Parkinson's disease, Alzheimer's, and cancer, among others (PHUNG et al., 2019). ^[5]

It is known that the central nervous system (CNS) is a susceptible target for this pesticide exposure, considering that it acts through the inhibition of acetylcholinesterase by organophosphates and carbamates. Furthermore, organophosphates can also affect calcium channels or by blocking gamma-aminobutyric acid (GABA). The neurotoxic

effects of chronic exposure to pesticides can result in symptoms ranging from mild headaches to more severe clinical signs such as seizures and coma. [6-1]

Inhibition of acetylcholinesterase (AChE) enzyme activity reflects pesticide contamination since organophosphate insecticides can inactivate it in the synaptic cleft. Thus, AChE inhibition has been used as a marker of exposure to these substances since this enzyme is responsible for the hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine. Its inhibition causes depression in neurological functions, resulting in the perception of physical pain, respiratory diseases, mental fatigue, and even episodes of serious illnesses such as anxiety and depression [7-8].

There is a growing increase in the number of cases of depression and anxiety worldwide; on the other hand, this significantly affects the relationship of these individuals with their work. According to WHO, depression is associated with poor performance at work, the second leading cause of absence from work, and the high economic impact of this disease is linked to lack of treatment. [9]

In Brazil, the Psychosocial Care Network (RAPS) has been used in the Unified Health System (SUS) for the treatment of people with depression, anxiety, schizophrenia, bipolar affective disorder, obsessive-compulsive disorder, and even for former drug addicts, with that, in 2020, 97 million reais were spent on expanding this network. [10]

Therefore, this literature review aimed to compile results published in the literature that correlates anxiety and depression in individuals occupationally exposed to pesticides.

This study is a systematic review based on the PRISMA guidelines (Key Items for Reporting Systematic Reviews and Meta-analyses, MOHER et al., 2015), which used the PICO strategy (patients/participants, interventions/exposure, comparisons/comparisons, outcomes /outcomes) involving the four components: Population to be studied (patient),

level or type of exposure (intervention), comparison between exposure and non-exposure to pesticides (comparisons), the occurrence of depression and anxiety (primary outcome). Thus, we sought to study: People occupationally exposed to pesticides (P); Occupational exposure to pesticides (I); People not occupationally exposed to pesticides (C); occurrence of anxiety and depression (O).

Articles published between 2002 and 2022 were selected, given the low number of articles included in the other inclusion criteria. Furthermore, only studies in which the development of signs and symptoms of depression and anxiety were associated with occupational exposure to pesticides were included. The bibliographic survey was carried out in the PUBMED, SCOPUS, and Google Scholar databases using the descriptors *pesticide*, *agrochemicals*, *human health*, *depression*, and *anxiety*.

The inclusion criteria adopted considered cross-sectional and longitudinal studies, whose investigation between exposure to pesticides followed by contamination and the appearance of depressive and anxiogenic symptoms and clinical signs were present as results. The exclusion criteria applied were environmental studies, case reports, experimental work, short communications, investigations carried out with children, and manuscripts published in languages other than English. Thus, the flowchart of the sorted results is shown in Figure 1.

Furthermore, after reading the studies in full, studies that did not collect data through structured questionnaires and previously validated psychiatric scales were excluded. However, research carried out solely and exclusively through the collection of biological material, aimed at measuring toxicological biomarkers, book chapters and letters to the editor, allowed the exclusion of some more publications.

After applying the inclusion and exclusion criteria, eleven articles were selected, and are listed in Table 1.

Population

This work includes research involving populations whose occupational exposure to pesticides occurred directly or indirectly, whose exposed individuals developed depressive and anxiogenic symptoms.

The total population analyzed in this study was constituted by the sum of the number of individuals mentioned in the selected studies, that is, it encompasses 7.168 farmers, among which, 5.681 were occupationally exposed to pesticides and 1.835 were not exposed.

Measurement of exposure to pesticides and depression and anxiety symptoms

Occupational exposure to pesticides reported in the evaluated population occurred through direct handling of pesticides. The studies used questionnaires or validated scales to identify signs and symptoms of self-reported depression.

Results and discussion

Searches carried out in the databases resulted in 2,323 articles. However, after applying the proposed inclusion and exclusion criteria, a total of 9 works were found, which are equivalent to 0.38% of the initial number. Reading the title allowed the exclusion of 2,261 manuscripts. Another 35 were also excluded because they were duplicated and, finally, the last 27 excluded presented only a literature review. Thus, Figure 2 shows the selection stages of the manuscripts.

In all cases, the type of exposure was assessed using questionnaires, and all publications had scores or self-reported signs and symptoms of anxiety and depression in the assessed individuals.

Among the selected articles, two assessed depressive signs and symptoms outside of scales standardized by the area of psychology and psychiatry. However, respondents in these two studies should answer whether they had already received a diagnosis of anxiety or depression from professionals specializing in the field of Mental Health. ^[11-12] In this sense, the instruments Self Report Questionnaire (SRQ-20) were used; Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D); CDI-2 and MASC-2; Mini International Neuropsychiatric Interview Diagnostic Test (MINI), Beck-II Depression Inventory (BDI-II) and Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) in the 9 selected studies.

Beseler and Stallones (2002) evaluated residents of agricultural farms in the Colorado region, USA, between 1992 and 1997 and observed that prolonged exposure to pesticides was associated with intoxication and depressive symptoms. Although this prevalence rate of depressive symptoms is lower than those observed in the general population and other areas of agricultural cultivation at the time, chest pain, difficulty in breathing, eye, and skin irritation had an increased odds ratio in the population exposed to pesticides. In addition, signs of irritability were associated with more significant contact with pesticides such as organophosphate in the exposed population. ^[13] Thus, we believe that the difficulty in establishing a direct relationship between mental disorders and the referred clinical signs results from the time interval between exposure and disease development, which would not be sufficient since synthetic organic agrochemicals appeared after 1980 and there is a need for an exposure interval of approximately 15 years for the development of the disease. ^[14-15]

Breard et al. (2013), when prospectively evaluating wives of farmers in the state of North Carolina, USA, also noticed an association between the occurrence of pesticide poisoning and the subsequent development of depression. ^[11] Also, Iowa and North Carolina states had a lower prevalence of depression in the wives of farmers in their region when compared to national values. However, due to the importance of this disease in the female population involved in the agricultural sector, a follow-up study was carried out, in which 16,893 women between 1993 and 1997 did not have the disease according to the medical assessment at the time. Thus, from 2005 to 2010, the researchers contacted the telephone lines and applied a self-reported depression questionnaire, reaching the number of 1054 cases of depression in the studied population. A recent study with the rural population of South Korea had 2151 participants, among which 1230 were female. Still, the diagnostic tool for the disease was the Scale of the Epidemiological Center for Studies on Depression (CES-D). ^[17]

Although there were efforts to find some association between the class of pesticides and specific types used by both women and their husbands, it was not possible to determine whether any class or use of any particular product was associated with the onset of depression in the population of female farmers. ^[11] Thus, the authors concluded that exposure to high levels of agrochemicals increases the risk of depression in this population. Similar results are described by Koh et al. (2017) ^[16] since the level of intensity of pesticides and the number of cases of acute poisoning in the rural population analyzed was strongly associated with depression. Therefore, we understand that occupational exposure to pesticides triggers the emergence of mental disorders, which are favored by the intensity of exposure and the occurrence of intoxication. However, it should be noted that these two works only mainly had women in their study population,

which should not be synonymous with female farmers having a greater tendency to develop mental disorders.

Another work carried out by Beseler and Stallones, published in 2008, ^[13] evaluated approximately 617 farmers during the years 1993 and 1996, and concluded that prolonged exposure to pesticides contributes to the feeling of irritability of the participating individuals.

Weisskopf ^[12] (2013) evaluated 567 farmers during the years 1998 and 2000 in France and found that 14.6% of respondents reported hospitalization or the use of medication at home for the treatment of depression. In addition, this work showed differences between genders (male and female) and the type of exposure (occupational or not) that individuals reported. Thus, women with depression had less exposure and intoxication by pesticides than depressed men. On the other hand, men who worked exposed to pesticides for a long time presented more.

The results of Campos ^[14] et al. (2016), in a study in Rio Grande do Sul, Brazil, that evaluated 869 individuals directly or indirectly involved in tobacco growing, showed the occurrence of anxiety, mood, and somatization disorders possibly associated with tobacco cultivation. The previous diagnosis of self-reported depression in this study was 21%.

Harrison and Ross (2016), whose study was developed in the United Kingdom using self-report scales (BDI-II, BAI, and HADS), found higher anxiety levels in the population exposed to pesticides. Furthermore, Koh et al. (2017), ^[16] in a study carried out in South Korea and using the CES-D scale (Depression Scale of the Epidemiological Center), show a positive association between the use of pesticides for more than 20 years and the occurrence of depressive symptoms. In addition, it found the highest incidence of intoxication in depressed individuals.

An important fact to be analyzed was that, in general, the cited studies resort to the most diverse scales of evaluation of mental disorders, referring mainly to the occurrence of depressive and/or anxiogenic disorders in individuals exposed or not to the different types of pesticides. However, these measurement tools, performed through self-report, may not be as reliable in diagnosing depression and anxiety. ^[17-18]

The works by Serrano-Medina ^[19] et al. (2019) and Kori ^[20] et al. (2020) present hematological, biochemical, and enzymatic activity markers of AChE in workers who had direct contact with pesticides. The inhibition of this enzyme stands out in the control and development of mental disorders. In this case, due to AChE inhibition in the synaptic clefts and neuromuscular junctions, there is an increase in the concentration of acetylcholine, which, in turn, binds to muscarinic and nicotinic receptors. Therefore, there is an excess in the performance of the parasympathetic system, especially if there is exposure and intoxication by carbamates and organophosphates since they are good examples of AChE inhibitors and are widely used frequently in agricultural activity. ^[17]

In their study, Serrano-Medina ^[19] et al. (2019), carried out in California with rural workers exposed and not exposed to pesticides, evaluated the enzymatic activity of AChE, where inhibition of its activity was observed in 25% of farmers who met the requirements for significant depression with attitudes suicidal. As for the percentages whose AChE activity was strongly inhibited, it was observed that 23.9% had generalized anxiety, 23.5% were considered to have combined depression and anxiety, and 22% were diagnosed with major depression and the absence of other psychiatric disorders.

Kori ^[20] et al. (2020) demonstrate that chronic exposure to pesticides in rural farmers in India caused a reduction in AChE activity in addition to a decrease in the level of dopamine (DP) and its metabolite 3,4-dihydroxyindoleacetic acid (DOPAC), as well as neurotransmitters serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE), in addition to an increase

in MAO-A and MAO-B levels, so that such neurochemical alterations are associated with mental disorders.

Measurement of erythrocyte AChE activity is a biomarker of both acute intoxication and prolonged exposure to pesticides, with a decrease in hemoglobin concentration being one of the common laboratory findings in the exposed population. In addition, it is thought that the duration and frequency of exposure are related to the AChE inhibitory mechanism, as a 25% reduction in this enzymatic activity represented an increase in neurological symptoms, followed by an increase in suicidal ideation, and the clinical manifestations of depressive disorders. ^[19]

Figure 3 exemplifies the activity of AChE in the neuronal synaptic cleft and the chemical structure of three essential neurotransmitters for the state of mental health in humans, whose imbalance leads to behavioral changes.

In addition, studies have shown that a decrease in the level of 5-HT (a precursor of serotonin) and its metabolites is associated with serotonergic impairment, which may lead to irritability, insomnia, the speech of appetite, memory loss, and also to depressive and anxiolytic conditions. In this sense, pesticide exposure decreases the expression of 5-HT receptors since occupationally exposed individuals have an increased risk of becoming ill with the diseases, as mentioned earlier. ^[20]

Furthermore, DA participates in the regulation of emotional, cognitive, and other functions. Therefore, the high levels of MAO-A and MAO-B resulted in the breakdown of DA, NE, and 5-HT, leading to a reduction in their metabolites DOPAC and 5-HIAA. Such alterations were also verified by the study by Kori et al. (2020) ^[20], given that the population exposed to agrochemicals had decreased levels of both such neurotransmitters and their metabolites.

Conclusion

The present work observed that high exposure to pesticides and, mainly regarding the intensity and frequency of intoxications, which are seen in an occupational and familiar way in the rural population, has an increased risk for the development of mental disorders when compared to the rural control population. Depression, anxiety, and irritability are the psychological changes most commonly associated with people exposed to pesticides, and the number of acute intoxications may favor the onset of diseases. Therefore, it becomes necessary to think of viable alternatives to agricultural productivity whose effects are less harmful to One health.

Acknowledgments

This study was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) number 28/2018.

References

- [1] Mwabulambo, S. G.; Mrema, E. J.; Ngowi, A. V.; Mamuya, S. Health Symptoms Associated with pesticides exposure among flower and onion pesticide applicators in Arusha Region. *Ann. Glob. Health*, **2018**, *84* (3), 369–379. DOI: 10.29024/aogh.2303.
- [2] de Moraes, R. F. Agrotóxicos no Brasil: Padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória. **2019**, 84.
- [3] Lopes, C. V. A.; Albuquerque, G. S. C. de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde Debate*, **2018**, *42*, 518–534. DOI: 10.1590/0103-1104201811714.
- [4] Kapeleka, J. A.; Sauli, E.; Sadik, O.; Ndakidemi, P. A. Biomonitoring of acetylcholinesterase (ache) activity among smallholder horticultural farmers occupationally exposed to mixtures of pesticides in Tanzania. *J. Environ. Public Health*, **2019**, e3084501. DOI: 10.1155/2019/3084501.
- [5] Cassal, V. B.; Azevedo, L. F. de; Ferreira, R. P.; Silva, D. G. da; Simão, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. *REGET-CT/UFSM*, **2014**, 437–445. DOI: 10.5902/2236117012498.
- [6] Buralli, R. J.; Ribeiro, H.; Iglesias, V.; Muñoz-Quezada, M. T.; Leão, R. S.; Marques, R. C.; Almeida, M. M. C. de; Guimarães, J. R. D. Occupational exposure to pesticides and health symptoms among family farmers in Brazil. *Ver. Saúde Pública*, **2020**, *54*, 133–133. DOI: 10.11606/s1518-8787.2020054002263.
- [7] Jones-Bitton, A.; Best, C.; MacTavish, J.; Fleming, S.; Hoy, S. Stress, anxiety, depression, and resilience in canadian farmers. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.*, **2020**, *55* (2), 229–236. DOI: 10.1007/s00127-019-01738-2.
- [8] Razzouk, D.; Razzouk, D. Por que o Brasil deveria priorizar o tratamento da depressão na alocação dos recursos da saúde? *Epidemiol. Serv. Saúde*, **2016**, *25* (4), 845–848. DOI: 10.5123/S1679-49742016000400018.
- [9] de Mattos, L. T. Volumes e gastos públicos e privados com medicamentos usados em depressão no Brasil. **2020**, 182.

- [10] Beard, J. D.; Hoppin, J. A.; Richards, M.; Alavanja, M. C. R.; Blair, A.; Sandler, D. P.; Kamel, F. Pesticide Exposure and Self-Reported Incident Depression among Wives in the agricultural health Study. *Environ Res*, **2013**, *126*, 31–42. DOI: 10.1016/j.envres.2013.06.001.
- [11] Weisskopf, M. G.; Moisan, F.; Tzourio, C.; Rathouz, P. J.; Elbaz, A. Pesticide exposure and depression among agricultural workers in France. *Am. J. Epidemiol*, **2013**, *178* (7), 1051–1058. DOI: 10.1093/aje/kwt089.
- [12] Beseler, C. L.; Stallones, L. a cohort study of pesticide poisoning and depression in colorado farm residents. *Ann Epidemiol*, **2008**, *18* (10), 768–774. DOI: 10.1016/j.annepidem.2008.05.004.
- [13] Campos, Y.; Dos Santos Pinto da Silva, V.; Sarpa Campos de Mello, M.; Barros Otero, U. Exposure to pesticides and mental disorders in a rural population of southern Brazil. *Neurotoxicology*, **2016**, *56*, 7–16. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.06.002.
- [14] Tudi, M.; Daniel Ruan, H.; Wang, L.; Lyu, J.; Sadler, R.; Connell, D.; Chu, C.; Phung, D. T. Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *J. Environ*, **2021**, *18* (3), 1112. DOI: 10.3390/ijerph18031112.
- [15] Koh, S.-B.; Kim, T. H.; Min, S.; Lee, K.; Kang, D. R.; Choi, J. R. Exposure to pesticide as a risk factor for depression: a population-based longitudinal Study in Korea. *Neurotoxicology*, **2017**, *62*, 181–185. DOI: 10.1016/j.neuro.2017.07.005.
- [16] Suarez-Lopez, J. R.; Hood, N.; Suárez-Torres, J.; Gahagan, S.; Gunnar, M. R.; López-Paredes, D. Associations of acetylcholinesterase activity with depression and anxiety symptoms among adolescents growing up near pesticide Spray Sites. *Int J Hyg Environ Health*, **2019**, *222* (7), 981–990. DOI: 10.1016/j.ijheh.2019.06.001.
- [17] Furlong, M. A.; Paul, K. C.; Cockburn, M.; Bronstein, J.; Keener, A.; Rosario, I. D.; Folle, A. D.; Ritz, B. ambient pyrethroid pesticide exposures in adult life and depression in older residents of California’s Central Valley. *Environ Epidemiol*, **2020**, *4* (6), e123. DOI: 10.1097/EE9.000000000000123.
- [18] Serrano-Medina, A.; Ugalde-Lizárraga, A.; Bojorquez-Cuevas, M. S.; Garnica-Ruiz, J.; González-Corral, M. A.; García-Ledezma, A.; Pineda-García, G.; Cornejo-Bravo, J. M. Neuropsychiatric disorders in farmers associated with organophosphorus pesticide exposure in a rural village of Northwest México. *J. Environ*, **2019**, *16* (5), 689. DOI: 10.3390/ijerph16050689.

[19] Kori, R. K.; Mandrah, K.; Hasan, W.; Patel, D. K.; Roy, S. K.; Yadav, R. S. Identification of markers of depression and neurotoxicity in pesticide exposed agriculture workers. *J. Biochem. Mol. Toxicol*, **2020**, *34* (6), e22477. DOI: 10.1002/jbt.22477.

FIGURE CAPTIONS

Table 1: Studies selected for the literature review according to the selection methods. The works are arranged in chronological and ascending order on the date of their publication.

Authors	Location	Title	Outcomes
Stallones & Beseler (2002)	United States of America	Pesticide Poisoning and Depressive Symptoms among Farm Residents.	Exposure to pesticides in high concentrations was associated with depressive symptoms.
Beseler & Stallones (2008)	United States of America	A Cohort Study of Pesticide Poisoning and Depression in Colorado Farms Residents.	Feeling uncomfortable and thinking that everything was an effort was associated with a history of pesticide poisoning, confirming the hypothesis that prolonged irritability may be due to pesticide poisoning.
Breard et al. (2013)	United States of America	Pesticide exposure and self-reported incident	Pesticide exposure is associated with an increased risk

		depression among wives in the Agricultural Health Study.	of depression and establishes that moderate levels of pesticide exposure experienced by farmers' wives are unlikely to increase the risk.
Weisskopf (2013)	France	Pesticide exposure and depression among agricultural workers in France.	A risk rate for depression associated with the use of herbicides was observed in the occupationally exposed public.
Campos et al. (2016)	Brazil	Exposure to pesticides and mental disorders in a rural population of Southern Brazil.	The results suggest that exposure to pesticides may be related to mental disorders.
Harrison & Ross (2016)	United Kingdom	Anxiety and depression following cumulative low-level exposure to organophosphate pesticides.	Higher rates of anxiety and depression were observed in self-report questionnaires. As for confirmation of diagnosis, only anxiety was confirmed.

Koh et al. (2017)	South Korea	Exposure to pesticide as a risk factor for depression: a population-based longitudinal study in Korea.	Exposure to pesticides in high concentration was associated with depressive symptoms among Korean adults.
Serrano-Medina et al. (2019)	Mexico	Neuropsychiatric Disorders in Farmers Associated with Organophosphorus Pesticide Exposure in a Rural Village of Northwest México.	The results suggest a slight enzymatic inhibition, suggesting a diagnosis of major depression with suicidal attitudes, generalized anxiety, depression combined with anxiety.
Kori et al. (2020)	India	Identification of markers of depression and neurotoxicity in pesticide exposed agriculture workers.	A significant increase in depressive symptoms was observed in workers exposed to pesticides compared to those not exposed.

6. ARTIGO CIENTÍFICO 2

RESEARCH ARTICLE

Neuroimmunological Alterations Induced by Occupational Exposure to Pesticides in Women in the Southwest Region of Paraná

Abstract

The use of pesticides has a great influence on the increase in productivity of the agricultural sector. However, this practice carries risks to the health of rural workers, such as the development of mental disorders. This study aimed to investigate the relationship between occupational exposure to pesticides and possible signs and symptoms of anxiety and depression, as well as their neurological biomarkers, in addition to cytokines. Residents in the Southwest region of Paraná were recruited 100 women for this study, where they were divided into groups, 51 exposed and 49 not exposed. Data were collected through questionnaires and blood collection. From this, some were analyzed and measured in the plasma of the participants, such as: Interleukin 6 (iL-6), Interleukin 1 β (il-1 β), Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and the biomonitoring of cholinergic activity. The results of the questionnaire scores suggest that exposure to pesticides is correlated with the development of anxiety and depression in the agricultural population. The analysis of biological markers showed statistical differences for the activity of butyrylcholinesterase (BuChE) and between groups of women exposed and not exposed to pesticides. It is said that women characterized as exposed to these products harmful to health, are at greater risk for the development of mental disorders.

Keywords: Pesticides; cytokines; brain-derived neurotrophic factor (BDNF); acetylcholinesterase.

INTRODUCTION

The increase in productivity in the agricultural sector is linked, among other factors, to the application of pesticides, which, in turn, lead to the death of fungi, bacteria, insects or even unwanted plants for cultivation (MWABULAMBO et al., 2018). Still mentioned in the world literature regarding function, chemical structure and origin, herbicides, organophosphate insecticides and biopesticides, respectively, have caused numerous damage to public health through continuous exposure or acute intoxication in humans (ESPESCHIT; SANTANA; MOREIRA, 2021; RICHARDSON et al., 2019). Therefore, although they reflect advantages and gains for agriculture, the adverse effects of exposure to pesticides are numerous and impact on the development of neuropsychological diseases such as depression, anxiety, Alzheimer's, Parkinson's and others (JONES-BITTON et al., 2020; KORI et al., 2020; M. KHAN et al., 2019; SERRANO-MEDINA et al., 2019).

Exposure to pesticides and the development of mental disorders are well documented, especially in rural populations, defining that occupational contact confers greater risk to individuals directly or indirectly involved in agriculture due to the neurotoxic effects of pesticides (FASSA et al., 2021; HARRISON; MACKENZIE ROSS, 2016; KOH et al., 2017). In addition, it is worth mentioning that anxiety, depression and even high suicide rates are some common conditions in these populations (ABDULLAH et al., 2018; DICKERSON et al., 2020; FURLONG et al., 2020; JONES-BITTON et al., 2020).

Most studies use self-reported scales to diagnose depression and anxiety. Despite being purpose-validated questionnaires, they support the diagnosis of these diseases even if there are certain feasibility of the study, such as: understanding of the questions and sincerity in their answers by the participants, the epidemiological characteristics of evaluating the occurrence of mental disorders at a time and not at continuous intervals. The Perceived Stress Scale (PSS), the Anxiety and Hospital Depression Scale (HADS) and the Connor-Davidson Resilience Scale were used to diagnose anxiety and depression in their populations studied (FURLONG et al., 2020; JONES-BITTON et al., 2020; SERRANO-MEDINA et al., 2019).

The enzymatic analysis, together with the use of self-reported questionnaires, has been shown to be useful for the diagnosis of anxiety and depression in the rural population exposed to pesticides. The activity of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) is recognized as biomarkers of exposure to carbamates and organophosphates. Inhibition of the activity of these enzymes leads to an increase in acetylcholine (ACh) in the synaptic cleft, so that ACh binds to muscarinic and nicotinic receptors. This connection exacerbates the activity of the Parasympathetic Nervous System (SNPS) and interferes in all nerve synapses, leading to a reduction in the individual's body activity (MANFO et al., 2020; RICHARDSON et al., 2019; SERRANO-MEDINA et al., 2019; SUAREZ-LOPEZ et al., 2019).

Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) belongs to the neurotrophin family and its expression can be affected by neuronal progenitor cells originating from the cholinergic system hypofunction, resulting in psychiatric disorders due to methylation alterations (LIU et al., 2018). In addition, the immunological role participates in depressive and anxiety disorders, so that interleukins (IL-1 β , IL-6) have been reported as potentially involved in the pathogenesis of depressive symptoms (BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020; VOGELZANGS et al., 2016). In this sense, it is believed that the analysis of HADS and biomarkers (BuChE, BDNF, IL-1 β and IL-6) may be useful for the purpose of this study.

Therefore, the aim of this study is to evaluate the existence of an association between occupational exposure to pesticides and the manifestation of signs and symptoms of anxiety and depression in women, in addition to verifying the mechanisms of this pesticide-induced mental disorder by neurological biomarkers.

MATERIAL AND METHODS

Study design

The Institutional Ethics Committee approved this study of the State University of Western Paraná (UNIOESTE) under opinion 35524814.4.0000.0107, opinion number 4,592,132. Only the patients who signed the Informed Consent Form (TCLE) (Annex I).

We evaluated 655 women attended at the Francisco Beltrão Cancer Hospital (CEONC) – Paraná, Brazil, between 2015 and 2022, from 27 municipalities included in the 8th Regional Health Of Paraná. A validated data collection instrument for this population was used to obtain the occupational exposure profile to pesticides. Based on this information, 100 participants without cancer diagnosis were included and patients were categorized as occupationally exposed (51 women) or not exposed (49 women) to pesticides.

Data collection instruments

The first stage of the research was conducted by collecting data from medical records, such as: location, age, weight, height, BMI, exposure to pesticides and non-cancer patients.

The second stage of the research was through a health stage, which aimed to evaluate socioeconomic, life and general health status data. For rural women, data were collected on aspects related to rural property, such as: daily occupational activities, type, time, frequency and mode of exposure to pesticides, list of intoxications and associated symptoms.

The instrument established and self-styled HADS (Hospital Anxiety Depression Scale), responsible for evaluating symptoms related to anxiety and depression (MARCOLINO et al., 2007) was applied. Its data collection instrument was developed as a principle with the objective of identifying symptoms in patients from clinical hospitals, and was later used in other types of patients, as in other types of non-hospitalized patients and even in data without evidence of such diseases. The scale was simplified into 14 items, subdivided into subscales of anxiety and depression. Scores above 8 were used to characterize the presence of anxiety and depression.

This data collection was not possible to be performed in person, since the study was conducted during the COVID-19 pandemic.

Blood collection techniques and instruments

Blood samples were collected at the time of obtaining a biological blood sample, still in the CEONC operating room, by the professionals. Disposable

gloves, tourniquets, 70% alcohol, cotton, dressings, syringes and disposable needles were used. For this, the participant was instructed on blood collection and, later, palpated the forearm, aseptis and venous puncture, to collect 4 mL of blood. The collected material was placed in tubes containing the ANTICOAGULANT EDTA. For blood processing, the samples were centrifuged for 5 minutes at 4000 rpm, the plasma was collected and stored at -20° C in a uniwestern freezer until the moment of each analysis.

Neuroinflammatory and oxidative stress biomarkers

BchE enzyme activity

The activity of the enzyme butyrylcholinesterase (BChE) was measured in plasma samples using the method proposed by Ellman et al. (1961), adapted by Rhee et al. (2001) and Jonca et al. (2015). The product of the reaction between the acetylcholine substrate and the enzyme butyrylcholinesterase, called thiocholine, reacts with the acid aceon acid 5,5-dithium-bis-nitrobenzoic acid (DTNB), producing a yellow anion that can be measured spectrophotometrically at 412 nm. (ELLMAN et al., 1961; JONCA et al., 2015; RHEE et al., 2001)

Plasma levels of hydroperoxides

The determination of hydroperoxide contents from lipid peroxidation was performed using the technique of high sensitivity chemiluminescence (QOL), as described by Flecha et al. (1991) and adapted by Panis et al. (2012), an action mediated by terc-butyl. Initially, 855µl of women (phosphate 210mM, pH monobasic phosphate 7.4) and plasma aliquots of the study participants were used. The reaction began with the addition of a 20µl terc-butyl (3 mM) solution, which was monitored using a Glomax 20/20 device (Promega, USA), seeking to evaluate photon emission. Through each value performed, the calculation of the curvature of the emission was performed to produce the integral results of the relative light units (RLU). (ARROW G. B.; LLESUY; BOVERIS, 1991; PANIS et al., 2012)

Cytokines and BDNF

Techniques measured by means of an enzymatic kit, carried out at UFFS - Federal University of Southern Border - Campus Realeza, Paraná, Brazil in the Biochemistry Laboratory. To quantify the plasma levels of IL-1 β and IL-6 cytokines, as well as BDNF, the immunosorbent Assay (ELISA) enzyme method was used using commercial kits (e-Biosciences®, USA). Plasma aliquots were incubated in a plate containing a specific capture antibody for each cytokine or BDNF, followed by successive washes and incubation with secondary antibody marked with streptavidine. A specific substrate has been added for reaction detection, and the plate is read at 642 nm. The results were calculated in pg/ml from standard curve data for each cytokine. The detection limit of the kits was 2 pg/mL.

Statistical analysis

Statistical analysis occurred in the groups of women exposed and not exposed to pesticides, evaluating the presence of anxiety and depression in both groups according to the self-reported HADS score. On the other hand, the evaluation of biomarkers sought to identify significant enzymatic behaviors among the study groups that could be correlated with the psychological disorders under study.

The outcomes of HADS and biological markers were submitted to descriptive analysis using the Jamovi software, version 2.2.18, which, through the Shapiro-Wilk test, determined the degree of dispersion in the data obtained both in the exposed groups and in those not exposed to pesticides. Thus, for the variables with standard of categorical normality, the Student's t-test was used for comparison and its values were expressed in mean and standard deviation. On the other hand, the Mann-Whitney test was used to compare variables with non-categorical pattern, whose values were reported by median and interquartile range. In addition, the chi-square test (X^2) and the Spearman test were applied, respectively, as a correlation instrument between the variables surveyed.

RESULTS

This paper analyzes data from 100 women, divided into two groups, where 51 are occupationally exposed to pesticides and 49 are not exposed, being part of a control group for the analysis and comparison of the variables studied.

The T-test applied in independent samples showed a significant difference for anxiety and depression scores, variables obtained through questionnaires, on the signs and symptoms presented by the participants. It is observed that anxiety scores are higher for women living in rural areas and are directly more exposed to pesticides than in the control group, characterized by the urban population.

The other variables analyzed, such as cytokines and neurological markers at IL-6, IL-1 β , Bche and BDNF, showed no statistically significant difference between the groups, as shown in Table 1. As well as LPO and bmi of the participants, they were also not significantly different for both groups.

Table 2: T test for independent samples, visualized under the variables presented in the questionnaire answered by the analyzed population.

T-test for independent samples				
	Statistics		GI	p
Age	Stydent t	2.631	96.0	0.010
	U de Mann-Whitney	832.0		0.009
Anxiety Score	Stydent t	3.687	96.0	<,001
	U de Mann-Whitney	681.0		<,001
Depression Score	Stydent t	5.133	96.0	<,001
	U de Mann-Whitney	529.5		<,001
IL-6	Stydent t	0.255	42.0	0.800
	U de Mann-Whitney	235.5		0.925

BChE	Stydent t	2.349	96.0	0.021
	U de Mann-Whitney	890.5		0.029
BDNF	Stydent t	0.677	87.0	0.500
	U de Mann-Whitney	842.5		0.246
IL-1B (2)	Stydent t	0.247	13.0	0.809
	U de Mann-Whitney	12.5		0.470
LPO	Stydent t	1.610*	64.0	0.112
	U de Mann-Whitney	464.0		0.384
BMI	Stydent t	0.384	10.0	0.709
	U de Mann-Whitney	12.0		0.864
The Levene test is significant ($p < 0.05$), suggesting the violation of the assumption of homogeneity of variances				

DISCUSSION

Farmers exposed to pesticides belong to a population very vulnerable to their toxicity, which is often associated with occupational exposure. The combination of pesticides increases toxicity and, depending on the type of agricultural crop, there is a need to prepare a mixture. In this sense, the cultivation of tobacco and soybeans are examples of increased risk of neurotoxicity in farmers (BERNIERI et al., 2020; NUT; Mr. SZWARCOWALD; DAMACENA, 2020).

Changes produced by PA neurotoxicity include headache, stomach pain, anxiety, depression and suicidal ideation (BURALLI et al., 2020; JONES-BITTON et al., 2020). In these cases, the most used forms to assess anxiety and depression in the exposed population have been made through the application of self-reported questionnaires and some biomarkers such as acetylcholinesterase (AChE), butyrylcholinesterase (BuChE), interleukins (IL-1b, IL-6 and IL-8), BDNF and others (FURLONG et al., 2020; MANFO, FAUSTIN PASCAL TSGU et al., 2020, 2020; VOGELZANGS et al., 2016).

HADS is one of the self-reference scales used for the diagnosis of mental disorders (anxiety and depression), so that it also acquires data on the sociodemographic conditions of the population studied (MINGHELLI, B., 2022; RIBEIRO et al., 2020).

The results of Buralli et al. (2020) observed acute symptoms and depressive signs in farmers and applicators exposed to PA. The use of Personal Protective Equipment (EPIs) revealed that the auxiliaries presented more symptoms common to occupational intoxication than the applicators, since the first ones used mi. On the other hand, the activity of the enzymes AChE and BuChE was inhibited. (BURALLI et al., 2020)

We believe that the variations in BuChE values are due to the moment of exposure and analysis of this biomarker, since (2020), when investigating the outcomes of occupational exposure to PA, found a significantly lower decrease of this enzyme during the period of high exposure to pesticides (BURALLI et al., 2020).

The inflammatory role resulting from exposure to said PA is verified since acute intoxications through irritation of the skin and mucous membranes, dyspnea and cough. In addition, chronic exposure affects hematological changes, such as decreased mean concentration of corpuscular hemoglobin, eosinophils and basophils. On the other hand, neuroendocrine intoxication affects the dopaminergic and serotonergic systems and the expressions of interleukin (IL-6, IL-1b, IL-8 and others) by the immune system (BERNIERI et al., 2020; GARCÍA-GARCÍA et al., 2016).

It is known that TNF- α attenuate or destroy immune system cells, depending, for example, on the conditions of the microenvironment. Therefore, in conditions where there is an inflammatory process in the course, it is expected to act in the interleukin family (LAHA et al., 2021). The results of Jin et. al (2020) sampling of serum levels of IL-6, IL-1 β and hypocretin-1 were related to inflammatory processes in patients with Major Depressive Disorder, suggesting that the increase in biomarkers acts on depressive pathology (JIN et al., 2020). However, the participation of cytokines in the regulation of the immune system and in the development of mental disorders is also associated with anxiety (VOGELZANGS et al., 2016).

The neurotoxicity of PA affects the functioning of mitochondria, resulting in oxidative damage that can be translated into some neurological diseases such as seizures, depression, Alzheimer's disease or Parkinson's disease. Table 1 summarizes our results for the evaluation of the biomarkers involved analyzed (FARKHONDEH et al., 2020; PRIETO, 2013; ZHONG et al., 2019).

The analysis of BuChE as a biomarker of AF poisoning contradicts itself, because according to Bernieri et al (2019) there is no increase in BuChE in soybean producers exposed to the pesticide PA, a combination of chemicals with genotoxic and mutagenic potential (BERNIERI et al., 2020).

CONCLUSION

This study aimed to emphasize the relationship between occupational exposure to pesticides and the development of mental disorders in women living in the southwestern region of Paraná. Through the results obtained through questionnaires and biochemical measures, it is observed that women characterized as exposed to these products harmful to health, present a higher risk for the development of mental disorders, as well as anxiety and depression. Observing this risk of the effect of exposure to pesticides on mental health conditions, it is, in fact, to alert power and public health, seek variable alternatives to agricultural productivity and promote more information about the damage that these products can cause to human, animal and environmental health.

REFERENCES

ABDULLAH, M. et al. Psychological autopsy review on mental health crises and suicide among youth in Pakistan. **Asia-Pacific Psychiatry: Official Journal of the Pacific Rim College of Psychiatrists**, v. 10, n. 4, p. e12338, dez. 2018.

BERNIERI, T. et al. Assessment of DNA damage and cholinesterase activity in soybean farmers in southern Brazil: High versus low pesticide exposure. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 4, p. 355–360, 2 abr. 2020.

BEUREL, E.; TOUPS, M.; NEMEROFF, C. B. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble. **Neuron**, v. 107, n. 2, p. 234–256, 22 jul. 2020.

BURALLI, R. J. et al. Occupational exposure to pesticides and health symptoms among family farmers in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 54, p. 133–133, 12 dez. 2020.

CADEZ, T. et al. Assessment of four organophosphorus pesticides as inhibitors of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 21486, 2 nov. 2021.

DICKERSON, A. S. et al. A Scoping Review of Non-Occupational Exposures to Environmental Pollutants and Adult Depression, Anxiety, and Suicide. **Current Environmental Health Reports**, v. 7, n. 3, p. 256–271, set. 2020.

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88–95, jul. 1961.

ESPESCHIT, I. DE F.; SANTANA, C. M.; MOREIRA, M. A. S. Public Policies and One Health in Brazil: The Challenge of the Disarticulation. **Frontiers in Public Health**, v. 9, p. 644748, 2021.

FARKHONDEH, T. et al. Organophosphorus Compounds and MAPK Signaling Pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 12, p. 4258, jan. 2020.

FASSA, A. G. et al. Child Labor in Family Tobacco Farms in Southern Brazil: Occupational Exposure and Related Health Problems. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 22, p. 12255, 22 nov. 2021.

FLECHA G. B.; LLESUY, S.; BOVERIS, A. Hydroperoxide-initiated chemiluminescence: an assay for oxidative stress in biopsies of heart, liver, and muscle. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 10, n. 2, p. 93–100, 1991.

GARCÍA-GARCÍA, C. R. et al. Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. **Life Sciences**, v. 145, p. 274–283, 15 jan. 2016.

HARRISON, V.; MACKENZIE ROSS, S. Anxiety and depression following cumulative low-level exposure to organophosphate pesticides. **Environmental Research**, v. 151, p. 528–536, nov. 2016.

JIN, K. et al. Linking peripheral IL-6, IL-1 β and hypocretin-1 with cognitive impairment from major depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 277, p. 204–211, 1 dez. 2020.

JOÑCA, J. et al. New Insights into Butyrylcholinesterase Activity Assay: Serum Dilution Factor as a Crucial Parameter. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0139480, 7 out. 2015.

JONES-BITTON, A. et al. Stress, anxiety, depression, and resilience in Canadian farmers. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 55, n. 2, p. 229–236, fev. 2020.

KOH, S.-B. et al. Exposure to pesticide as a risk factor for depression: A population-based longitudinal study in Korea. **Neurotoxicology**, v. 62, p. 181–185, set. 2017.

KORI, R. K. et al. Identification of markers of depression and neurotoxicity in pesticide exposed agriculture workers. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 34, n. 6, p. e22477, 2020.

LAHA, D. et al. The Role of Tumor Necrosis Factor in Manipulating the Immunological Response of Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 656908, 27 abr. 2021.

LIU, C. et al. DNA Methylation and Psychiatric Disorders. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 157, p. 175–232, 2018.

KHAN, K. et al. Residential Proximity to Agricultural Fields and Neurological and Mental Health Outcomes in Rural Adults in Matlab, Bangladesh. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 18, p. 3228, set. 2019.

MANFO, F. P. T., et al. Evaluation of the Effects of Agro Pesticides Use on Liver and Kidney Function in Farmers from Buea, Cameroon. **Journal of Toxicology**, v. 2020, p. 1–10, 29 jan. 2020.

MARCOLINO, J. Á. M. et al. Medida da ansiedade e da depressão em pacientes no pré-operatório. Estudo comparativo. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, p. 157–166, abr. 2007.

MINGHELLI, B. Anxiety and depression in higher education students | Cadernos Brasileiros de Saúde Mental/Brazilian Journal of Mental Health. 18 out. 2022.

MWABULAMBO, S. G. et al. Health Symptoms Associated with Pesticides Exposure among Flower and Onion Pesticide Applicators in Arusha Region. **Annals of Global Health**, v. 84, n. 3, p. 369–379, 2018.

NOGUEIRA, F. DE A. M.; SZWARCOWALD, C. L.; DAMACENA, G. N. Exposição a agrotóxicos e agravos à saúde em trabalhadores agrícolas: o que revela a literatura? **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 45, 27 nov. 2020.

PRIETO, C. S. DE L. Neurotoxicidade de pesticidas organofosforados durante o desenvolvimento: alterações bioquímicas e comportamentais. p. 103–103, 2013.

QUEIROZ, P. R. et al. Sistema de Informação de Agravos de Notificação e as intoxicações humanas por agrotóxicos no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 22, 25 abr. 2019.

RHEE, I. K. et al. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography. A**, v. 915, n. 1–2, p. 217–223, 27 abr. 2001.

RIBEIRO, C. F. et al. Prevalence of and Factors Associated with Depression and Anxiety in Brazilian Medical Students. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 44, 27 fev. 2020.

RICHARDSON, J. R. et al. Neurotoxicity of pesticides. **Acta Neuropathologica**, v. 138, n. 3, p. 343–362, set. 2019.

SERRANO-MEDINA, A. et al. Neuropsychiatric Disorders in Farmers Associated with Organophosphorus Pesticide Exposure in a Rural Village of Northwest México. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 5, p. 689, 26 fev. 2019.

SUAREZ-LOPEZ, J. R. et al. Associations of acetylcholinesterase activity with depression and anxiety symptoms among adolescents growing up near pesticide spray sites. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 222, n. 7, p. 981–990, 1 ago. 2019.

VOGELZANGS, N. et al. Cytokine production capacity in depression and anxiety. **Translational Psychiatry**, v. 6, n. 5, p. e825, 31 maio 2016.

ZHONG, J. et al. Baicalin ameliorates chronic mild stress-induced depression-like behaviors in mice and attenuates inflammatory cytokines and oxidative stress. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, n. 7, p. e8434, 2019a.

7. ANEXOS

7.1 ANEXO A

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Mapeamento do câncer de mama familiar no Sudoeste do Paraná e estudo de associação de risco com exposição ocupacional à agrotóxicos. Pesquisador: CAROLINA PANIS

Área Temática: Versão: 1CAAE: 35524814.4.0000.0107

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 810.501

Data da Relatoria: 25/09/2014

Apresentação do Projeto: Neste estudo pretende-se avaliar todas as mulheres diagnosticadas com câncer de mama, atendidas no Hospital de Câncer de Francisco Beltrão (Ceonc), em um período de 48 meses. A partir da análise de anotações em prontuários serão selecionadas para investigação dos genes de interesse aquelas mulheres com história de câncer de mama familiar com ou sem exposição ocupacional à agrotóxicos. Atende aos requisitos teóricos, metodológicos e éticos.

Objetivo da Pesquisa: Mapear os casos de câncer de mama familiar na região Sudoeste do Paraná e identificar possível associação a exposição ocupacional à agrotóxicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Não há riscos diretos aos sujeitos, uma vez que serão estudados materiais coletados durante cirurgias oncológicas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: 62 Relevante para a área de oncologia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Todos apresentados.

Recomendações: Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Não há pendências.

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP: Aprovado. O projeto não necessita adequações.

CASCAVEL, 29 de setembro de 2014

Assinado por: João Fernando Christofolletti (Coordenador)

Endereço: UNIVERSITARIA Bairro: UNIVERSITARIO CEP: 85.819-110 UF: PR
Município: CASCAVEL Telefone: (45)3220-3272 E-mail: cep.prppg@unioeste.br

7.2 ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Título do Projeto: *Mapeamento do câncer de mama familiar no Sudoeste do Paraná e estudo de associação de risco com a exposição ocupacional à agrotóxicos.*

Pesquisador responsável: Profa Dra CAROLINA PANIS – Telefones (43)99165316 e (46) 30571079

Convidamos você a participar de nossa pesquisa que tem o objetivo de identificar os casos de câncer de mama em mulheres que tem história da doença na família, que moram na região Sudoeste do Paraná. Para isso será realizada a coleta de um tubo de sangue (10 mL) e um tubo de saliva (1 mL) para fazer os exames necessários para identificar porque alguns tumores de mama levam à doenças tão agressivas.

Durante a execução do projeto também vamos precisar de uma parte do tecido tumoral que o médico irá remover durante a sua cirurgia ou que foi coletado para o diagnóstico da doença (na biópsia). Também precisaremos consultar o prontuário médico, para saber informações sobre sua saúde e sua ocupação de trabalho. Para algum questionamento, dúvida ou relato de algum acontecimento os pesquisadores poderão ser contatados a qualquer momento, pelos telefones (43)99165316 e (46) 30553026. Estamos disponíveis para esclarecer quaisquer dúvidas, a qualquer momento.

Desta forma, você está contribuindo para a identificação de fatores que levam à alta incidência de cânceres agressivos na nossa região.

Este termo será entregue em duas vias, sendo que uma ficará com você. Você não pagará nem receberá para participar do estudo. Seus dados serão mantidos em sigilo, ou seja, ninguém além dos 57 pesquisadores terá acesso ao material ou informações coletadas. Estes dados serão utilizados somente para fins científicos. Você poderá cancelar sua participação a qualquer momento. Se necessitar de maiores informações, o telefone do comitê de ética é 3220-3272 e da pesquisadora responsável é 46

30553026. A coleta de material será feita dentro do Ceonc, portanto qualquer imprevisto será resolvido imediatamente no local. Ao término do projeto, se a pesquisa identificar que a sua doença se classifica como câncer familiar, você será chamado ao Ceonc para receber esclarecimentos sobre como proceder no acompanhamento da doença nos próximos anos.

Declaro estar ciente do exposto e desejo participar do projeto.

Nome do sujeito de pesquisa ou responsável:

Assinatura:

CPF:

7.3 ANEXO C

NORMAS DA REVISTA

About the Journal

Journal of Environmental Science and Health, Part B is an international, peer-reviewed journal publishing high-quality, original research. Please see the journal's Aims & Scope for information about its focus and peer-review policy.

Please note that this journal only publishes manuscripts in English.

Journal of Environmental Science and Health, Part B accepts the following types of article:

Original articles

Open Access

You have the option to publish open access in this journal via our Open Select publishing program. Publishing open access means that your article will be free to access online immediately on publication, increasing the visibility, readership and impact of your research. Articles published Open Select with Taylor & Francis typically receive 95% more citations* and over 7 times as many downloads** compared to those that are not published Open Select.

Your research funder or your institution may require you to publish your article open access. Visit our Author Services website to find out more about open access policies and how you can comply with these.

You will be asked to pay an article publishing charge (APC) to make your article open access and this cost can often be covered by your institution or funder. Use our APC finder to view the APC for this journal.

Please visit our Author Services website if you would like more information about our Open Select Program.

*Citations received up to 9th June 2021 for articles published in 2016-2020 in journals listed in Web of Science®. Data obtained on 9th June 2021, from Digital Science's Dimensions platform, available at <https://app.dimensions.ai>

**Usage in 2018-2020 for articles published in 2016-2020.

Peer Review and Ethics

Taylor & Francis is committed to peer-review integrity and upholding the highest standards of review. Once your paper has been assessed for suitability by the

editor, it will then be single blind peer reviewed by independent, anonymous expert referees. If you have shared an earlier version of your Author's Original Manuscript on a preprint server, please be aware that anonymity cannot be guaranteed. Further information on our preprints policy and citation requirements can be found on our Preprints Author Services page. Find out more about what to expect during peer review and read our guidance on publishing ethics.

Preparing Your Paper

Original articles

Should be written with the following elements in the following order: title page; abstract; keywords; main text introduction, materials and methods, results, discussion; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list)

Should contain an unstructured abstract of 200 words.

Read making your article more discoverable, including information on choosing a title and search engine optimization.

Manuscripts should be written in clear and grammatical English, double-spaced throughout and organized as follows: The first page should contain the article title, authors' names and complete affiliations, footnotes to the title, and the address for manuscript correspondence including e-mail address and telephone and fax numbers. The ABSTRACT must be a single paragraph that states the specific objective(s) of the study and summarizes the main findings of the paper. After the abstract a list of up to 10 Keywords that will be useful for indexing or searching should be included. The INTRODUCTION should be as concise as possible, without subheadings. MATERIALS AND METHODS should be sufficiently detailed to enable the experiments to be reproduced, followed by the RESULTS AND DISCUSSION section. A concise CONCLUSION should appear at the end of the text. ACKNOWLEDGMENTS should be brief and should precede the REFERENCES section, followed by the list of FIGURE CAPTIONS, figures (diagrams) and tables. Submit the entire manuscript including all items noted above in one WORD file.

Style Guidelines

Please use American spelling style consistently throughout your manuscript.

Please use double quotation marks, except where “a quotation is ‘within’ a quotation”. Please note that long quotations should be indented without quotation marks.

MANUSCRIPT PREPARATION

Please click the 'Sample Paper' shown below to get the LINK for information on formatting and cover letter requirements. Your submission will be rejected if it does not comply.

Sample Paper

Formatting and Templates

Papers may be submitted in Word format. Figures should be saved separately from the text. To assist you in preparing your paper, we provide formatting template(s).

Word templates are available for this journal. Please save the template to your hard drive, ready for use.

If you are not able to use the template via the links (or if you have any other template queries) please contact us here.

Formats

Journal contributors should model articles after the published articles in the journal to which they are submitting and may contact the Editor for additional information.

Word Processing

The preferred format for submitted manuscript is Microsoft Word for the PC. Submitting your manuscript in this format ensures it will be handled in the most efficient manner.

Please refer to the sections below titled Math and Chemical Structures for instructions on how to prepare manuscripts containing these elements.

Use one typeface and size, even for the title of your article and headings (12-point Times New Roman is good). For italicized text, use the italic font. Do not use formatting (bold, italic and underline) to indicate article title and headings. Emphasis may appear in these elements where appropriate (e.g., scientific names, etc.). Do not include any commands for page breaks or headers or footers. Do not use an automatic numbering function to create numbered lists since the numbers may be lost when translated to typesetting software.

Title of Your Article and Headings

Use the same typeface and size as your text. Do not boldface, underscore or italicize your article title or headings. Place them flush left (not centered or indented). Insert a double return (or double “Enter”) above and below all headings.

Title Style: Initial Capital Then Lowercase Letters for Each Main Word (chemical prefixes and elemental symbols may include lowercase letters)

First-Level Headings Style: ALL CAPITAL LETTERS

Second-Level: Initial Capital Then Lowercase Letters for Each Main Word

Third-level: Capital letter for the first word only; all lowercase letters thereafter

No Automatic Hyphenation or Justification

Let lines “wrap” from one to the next, inserting hard returns only at the ends of headings, paragraphs, entries in a numbered or bulleted list, and references. Use a hyphen only when it connects part of a word. Do not divide syllables at the end of a line.

Vertical Spacing

Your hard copy printout may be marked up, so please double-space throughout (including “References” and illustration legends) to make it easy to read the final, edited manuscript. Double-space by using the appropriate line spacing command, not by using two returns. To indicate a required line ending—such as at the end of a heading, paragraph, list entry, or references—use a double return (or double “Enter”); do not indent. Do not use any additional vertical space beyond this. Double returns separating elements will convert into the final space you will see in typeset pages.

Horizontal Spacing

Use only a single space after a period or other punctuation; do not use the old typewriter style of hitting the spacebar twice after a period. Do not indent; new paragraphs are to be indicated by a double return (or double “Enter”).

Numbers

Be careful not to type the letter “l” for the number one, or the letter “o” for the number zero.

Dashes

For a dash, use two hyphens—with no spacing before or after.

Symbols

If you use a symbol in one place, continue to do so throughout. Example: If you use the symbol for multiplication, do not use the letter later.

Math

Manuscripts containing significant amounts of mathematical equations should be prepared in TeX/math. Please submit your TeX or LaTeX files as either plain TeX or standard LaTeX2e languages with little or no customization.

Chemical Structures

Structures should be produced with a chemical drawing program, preferably ChemDraw 4.5 or higher, and submitted in TIFF or Word format to allow use of electronic files in production. Structures should also be submitted in native file formats, e.g., RDX.

INSTRUCTIONS FOR PREPARING REFERENCES

Compliance with reference format instructions will significantly reduce manuscript production time. We understand that some information, e.g., an issue number, may not be available. Please include as much of the specified information as possible. Note that there are different formats for periodicals, books, etc.; please follow the appropriate model for each type of reference. Typefaces, commas, semicolons, and periods will serve as identifiers to a computer program for parsing and adding XML tags to the references. Please cite references in the text by number only superscripted in bracket. At the end of the article, list the references in the order they appear in the text.

Example:

Kaufman et al. [1] showed that 81% of the nearly 2600 participants had taken one medication in the past week and 25% had taken 5 or more medications. Much of the pharmaceutical dose used therapeutically is not completely degraded in the human body. [2-3] Heberer [4] showed that indeed, many pharmaceuticals are excreted unchanged or as conjugates of metabolic transformation (e.g. gluconurides, sulfates). Note the reference number citation particularly at the end of sentence.

Additional Information Field (e.g., supplementary materials)

- Designations or descriptions appear after the final field.
- Replace the period after final field with a semicolon.
- End additional information field with a period.
- There are no absolute formatting requirements for this field.

INSTRUCTIONS FOR PREPARING TABLES

Tables should be numbered with Arabic numbers in order of their mention in the text. Provide a brief title for each table typed directly above and the essential footnote below. Abbreviations should be defined in a footnote at the end of the table or as part of the Table caption. If any material in a table has been taken from a previously copyrighted publication, provide a credit line giving full credit to the original source.

- Please use Word (6.0 or newer) for the PC to format table(s).
- Please use a consistent typeface throughout the table body. Use Italic font when necessary (such as Latin terms) rather than using an underscore.
- Do not use an automatic numbering or bulleted-list function for table entries, as these numbers may become “lost” in translation during the processing of the files.
- Avoid the use of shaded areas and vertical rules within the table body.
- Limit the number of columns to fewer than 10. The use of many columns will most likely create readability problems.
- Avoid “straddle” column heads, i.e., those that span multiple columns. The simpler the table, the more likely it will be rendered accurately.

If graphics (such as structures and/or mathematics) will be included within the table, please include the graphics in separate electronic files, each piece with a separate file name, e.g., TBL1 CHEM1.

References

Please use this reference guide when preparing your paper.

Taylor & Francis Editing Services

To help you improve your manuscript and prepare it for submission, Taylor & Francis provides a range of editing services. Choose from options such as English Language Editing, which will ensure that your article is free of spelling and grammar errors, Translation, and Artwork Preparation. For more information, including pricing, visit this website.

Checklist: What to Include

Author details. Please ensure all listed authors meet the Taylor & Francis authorship criteria. All authors of a manuscript should include their full name and affiliation on the cover page of the manuscript. Where available, please also include ORCiDs and social media handles (Facebook, Twitter or LinkedIn). One author will need to be identified as the corresponding author, with their email

address normally displayed in the article PDF (depending on the journal) and the online article. Authors' affiliations are the affiliations where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the peer-review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after your paper is accepted. Read more on authorship.

You can opt to include a video abstract with your article. Find out how these can help your work reach a wider audience, and what to think about when filming.

Funding details. Please supply all details required by your funding and grant-awarding bodies as follows:

For single agency grants

This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx].

For multiple agency grants

This work was supported by the [Funding Agency #1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency #2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency #3] under Grant [number xxxx].

Disclosure statement. This is to acknowledge any financial or non-financial interest that has arisen from the direct applications of your research. If there are no relevant competing interests to declare please state this within the article, for example: The authors report there are no competing interests to declare. Further guidance on what is a conflict of interest and how to disclose it.

Data availability statement. If there is a data set associated with the paper, please provide information about where the data supporting the results or analyses presented in the paper can be found. Where applicable, this should include the hyperlink, DOI or other persistent identifier associated with the data set(s). Templates are also available to support authors.

Data deposition. If you choose to share or make the data underlying the study open, please deposit your data in a recognized data repository prior to or at the time of submission. You will be asked to provide the DOI, pre-reserved DOI, or other persistent identifier for the data set.

Supplemental online material. Supplemental material can be a video, dataset, fileset, sound file or anything which supports (and is pertinent to) your paper. We publish supplemental material online via Figshare. Find out more about supplemental material and how to submit it with your article.

Figures. Figures should be high quality (1200 dpi for line art, 600 dpi for grayscale and 300 dpi for color, at the correct size). Figures should be supplied in one of our preferred file formats: EPS, PDF, PS, JPEG, TIFF, or Microsoft Word (DOC or DOCX) files are acceptable for figures that have been drawn in Word. For information relating to other file types, please consult our Submission of electronic artwork document.

Tables. Tables should present new information rather than duplicating what is in the text. Readers should be able to interpret the table without reference to the text. Please supply editable files.

Equations. If you are submitting your manuscript as a Word document, please ensure that equations are editable. More information about mathematical symbols and equations.

Units. Please use SI units (non-italicized).

Using Third-Party Material in your Paper

You must obtain the necessary permission to reuse third-party material in your article. The use of short extracts of text and some other types of material is usually permitted, on a limited basis, for the purposes of criticism and review without securing formal permission. If you wish to include any material in your paper for which you do not hold copyright, and which is not covered by this informal agreement, you will need to obtain written permission from the copyright owner prior to submission. More information on requesting permission to reproduce work(s) under copyright.

Submitting Your Paper

This journal uses Taylor & Francis' Submission Portal to manage the submission process. The Submission Portal allows you to see your submissions across Taylor & Francis' journal portfolio in one place. To submit your manuscript please [click here](#).

Please note that Journal of Environmental Science and Health, Part B uses Crossref™ to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to Journal of Environmental Science and Health, Part B you are agreeing to originality checks during the peer-review and production processes.

On acceptance, we recommend that you keep a copy of your Accepted Manuscript. Find out more about sharing your work.

Data Sharing Policy

This journal applies the Taylor & Francis share upon reasonable request data sharing policy. Authors agree to make data and materials supporting the results or analyses presented in their paper available upon reasonable request. It is up to the author to determine whether a request is reasonable. Authors are required to cite any data sets referenced in the article and provide a Data Availability Statement. Please note that data should only be shared if it is ethically correct to do so, where this does not violate the protection of human subjects, or other valid ethical, privacy, or security concerns.

At the point of submission, you will be asked if there is a data set associated with the paper. If you reply yes, you will be required to provide the DOI, pre-registered DOI, hyperlink, or other persistent identifier associated with the data set(s). If you have selected to provide a pre-registered DOI, please be prepared to share the reviewer URL associated with your data deposit, upon request by reviewers.

Where one or multiple data sets are associated with a manuscript, these are not formally peer reviewed as a part of the journal submission process. It is the author's responsibility to ensure the soundness of data. Any errors in the data rest solely with the producers of the data set(s).

Publication Charges

There are no submission fees, publication fees or page charges for this journal. Color figures will be reproduced in color in your online article free of charge. If it is necessary for the figures to be reproduced in color in the print version, a charge will apply.

Charges for color figures in print are \$400 per figure (£300; \$500 Australian Dollars; €350). For more than 4 color figures, figures 5 and above will be charged at \$75 per figure (£50; \$100 Australian Dollars; €65). Depending on your location, these charges may be subject to local taxes.

Copyright Options

Copyright allows you to protect your original material, and stop others from using your work without your permission. Taylor & Francis offers a number of different license and reuse options, including Creative Commons licenses when publishing open access. Read more on publishing agreements.

Complying with Funding Agencies

We will deposit all National Institutes of Health or Wellcome Trust-funded papers into PubMedCentral on behalf of authors, meeting the requirements of their

respective open access policies. If this applies to you, please tell our production team when you receive your article proofs, so we can do this for you. Check funders' open access policy mandates [here](#). Find out more about sharing your work.

Open Access

This journal gives authors the option to publish open access via our Open Select publishing program, making it free to access online immediately on publication. Many funders mandate publishing your research open access; you can check open access funder policies and mandates [here](#).

Taylor & Francis Open Select gives you, your institution or funder the option of paying an article publishing charge (APC) to make an article open access. Please contact openaccess@tandf.co.uk if you would like to find out more, or go to our Author Services website.

For more information on license options, embargo periods and APCs for this journal please go [here](#).

My Authored Works

On publication, you will be able to view, download and check your article's metrics (downloads, citations and Altmetric data) via My Authored Works on Taylor & Francis Online. This is where you can access every article you have published with us, as well as your free eprints link, so you can quickly and easily share your work with friends and colleagues.

We are committed to promoting and increasing the visibility of your article. Here are some tips and ideas on how you can work with us to promote your research.

7.4 ANEXO D

COMPROVANTE DE SUBMISSÃO

Dear Dalila Moter Benvegnú,

Thank you for your submission.

Submission ID **222575360**
Manuscript Title **OCCUPATIONAL EXPOSURE TO PESTICIDES AND THE
OCCURRENCE OF MENTAL DISORDERS: A SYSTEMATIC
REVIEW OF THE LITERATURE**
Journal **Journal of Environmental Science and Health, Part B**

You can check the progress of your submission, and make any requested revisions, on the Author Portal.

Thank you for submitting your work to our journal.
If you have any queries, please get in touch with LESB-peerreview@journals.tandf.co.uk.

Kind Regards,
Journal of Environmental Science and Health, Part B Editorial Office

My Articles SUBMIT NEW MANUSCRIPT

SUBMISSION	TITLE	JOURNAL	STATUS	CHARGES
222575360	OCCUPATIONAL EXPOSURE TO...	Journal of Environmental Science and...	Manuscript Submitted	

1 SUBMISSION

- 22 November 2022 **Submission Created**
- 23 November 2022 **Submission Incomplete**
- 23 November 2022 **Manuscript Submitted** CONTACT
- With Journal Administrator