

**Pós-Graduação em Oncologia**  
**Hospital de Câncer de Barretos**

**Avaliação do comprimento dos telômeros como biomarcador para indivíduos  
expostos a agentes carcinogênicos no ambiente de trabalho**

**Mestranda:** Isabela Maria Campanelli  
dos Santos

**Orientador:** Prof. Dr. Henrique César  
Santejo Silveira

**Barretos 2021**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pelas bênçãos e vitórias alcançadas.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Henrique César Santejo Silveira, exemplo de profissionalismo, pelo acolhimento, por me dar a oportunidade de conduzir esse estudo, por sempre me estimular, por sempre estender a mão quando precisei e por sua paciência.

Ao Msc. André Van Helvoort Lengert, que desde o começo, foi um dos responsáveis por tornar essa dissertação possível, com o qual pude contar não só com a sua *expertise* e como também com a sua amizade.

A Dra. Paula Rohr que me ajudou nos momentos finais e decisivos. Obrigada pela ajuda, disponibilidade, por todos os conhecimentos compartilhados e por todo o apoio.

Ao grupo de pesquisa, o RUCAN, por toda a ajuda nos momentos de tempestades e conquistas.

Aos pesquisadores, biólogos e alunos do CPOM por me auxiliarem em todas as etapas deste projeto.

Ao Núcleo de Epidemiologia e Bioestatística (NEB) em especial agradeço ao Marcos Alves de Lima por toda a colaboração na parte estatística. Obrigada pela paciência em explicar as análises mais complexas e por estar sempre disponível para sanar qualquer dúvida.

Aos colegas de laboratório, em especial, Jefferson Vicente Tenesse, Priscila Pedrão, Mariana Balie e Luiza Francisco Veiga por ter tornado a jornada mais leve e por sempre me apoiarem para que eu conseguisse chegar até aqui. Serei eternamente grata por ter convivido com pessoas tão incríveis e por ter a oportunidade de chamá-los de amigos.

À Jessica Peixoto de Araújo, Mariana Salvi e Rubens Turin por estarem sempre ao meu lado, apoiando – me nas coisas boas e nas dificuldades. Obrigada Jéssica por todo o suporte e por sempre me ajudar quando precisei. Obrigada Carolina dos Santos por acreditar em mim e por ser uma prima apoiadora e ser um exemplo de bióloga. Obrigada Jéssica por todo o suporte e por sempre me ajudar quando precisei.

Aos membros da banca de acompanhamento, Dra. Céline Pinheiro e Dra. Juliana da Silva por toda a ajuda através de críticas, sugestões e contribuições.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por todo o suporte financeiro.

Agradeço às pessoas mais importantes da minha vida. Meu alicerce. Maristela Campanelli dos Santos e Nilton José dos Santos, meus pais e Gabriela dos Santos Buzon, minha irmã. Obrigada também Rafael Buzon e minha avó Maria Aparecida Campanelli. Obrigada Helena dos Santos Buzon por trazer luz e vida para essa família e para essa dissertação. Obrigada família pelo amor e carinho agradeço a fé que depositaram em mim, a qual nunca me deixou desistir.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1	O câncer relacionado ao trabalho	1
1.2	Exposição aos agrotóxicos e Câncer	3
1.4	O ambiente da construção civil e os agentes carcinogênicos	4
1.5	Biomarcadores de exposição/susceptibilidade	6
1.6	Comprimento do telômero e Câncer	7
1.7	Avaliação do comprimento absoluto do telômero	9
1.8	Comprimento do Telômero e a exposição ocupacional	10
2.	JUSTIFICATIVA	15
3.	OBJETIVO	16
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1	Fluxograma do Projeto	17
4.2	Delineamento do estudo	17
4.3	Local e População do Estudo	17
4.4	Cálculo do tamanho amostral	18
4.5	Critérios de inclusão	19
4.6	Critérios de exclusão	19
4.7	Questionário Epidemiológico e de Histórico Ocupacional	19
4.8	Coleta de Material Biológico	20
4.9	Análise do Comprimento dos telômeros	20
4.9.1	Extração de DNA	20
4.9.2	PCR em Tempo Real quantitativo para avaliação do comprimento dos telômeros seguindo o protocolo de O'Callaghan e Fenech, 2011	20

4.9.2.1	Cálculo das quantificações do comprimento telomérico absoluto	21
4.10	Quantificação dos metais nos trabalhadores da construção civil e do setor administrativo.	22
4.11	Análise estatística	22
4.12	Questões Éticas	23
4.12.1	Riscos	23
4.12.2	Benefícios	23
5.	RESULTADOS	25
5.1.	Otimização e Implementação da metodologia	25
5.2	Caracterização da população exposta e não exposta aos agrotóxicos	28
5.3	Caracterização dos principais agrotóxicos utilizados	29
5.4	Avaliação do comprimento telomérico nos grupos expostos e não expostos a agrotóxicos	31
5.4.1	Avaliação do comprimento dos telômeros e as covariáveis sócio-demográficas nos grupos exposto e não exposto a agrotóxicos	32
5.5.3	Avaliação do comprimento dos telômeros e a idade nos grupos exposto e não exposto a agrotóxicos	33
5.6	Características sócio-demográficas dos grupos expostos e não expostos da construção civil	37
5.7	Avaliação do comprimento telomérico nos grupos expostos e não expostos ao ambiente da construção civil	38
5.7.1	Avaliação do comprimento dos telômeros e as covariáveis sociodemográficas no grupo exposto ao ambiente da construção civil	39
5.7.2	Avaliação do comprimento dos telômeros e as covariáveis sócio-demográficas nos grupos exposto e não exposto ao ambiente da construção civil	40
5.7.3	Avaliação do comprimento dos telômeros e a idade nos grupos exposto e não exposto ao ambiente da construção civil	41

5.3.	Quantificação dos metais nas amostras dos trabalhadores da construção civil e do setor administrativo.	43
6.	DISCUSSÃO	46
7.	CONCLUSÕES	51
8.	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICES	59
	APÊNDICE I- FICHA DE AVALIAÇÃO DOS TRABALHADORES RURAIS	59
	APÊNDICE II – FICHA DE AVALIAÇÃO PARTICIPANTES CONSTRUÇÃO CIVIL E GRUPO CONTROLE	77
	APÊNDICE III - TCLE	82
	APÊNDICE IV – Matriz de exposição aplicada aos trabalhadores da construção	88

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Processo de carcinogênese e seus estágios de iniciação, promoção e proliferação. A fase de iniciação, na qual ocorrem alterações no DNA devido a uma exposição a carcinogênicos, seguida pela fase de promoção ocorrendo à formação de células malignas e pôr fim a fase de progressão culminando no surgimento do tumor. 2
- Figura 2 – Representação das categorias de biomarcadores de susceptibilidade desde à exposição à agentes químicos até o desfecho da doença. 6
- Figura 3 - Visão geral da composição e função dos telômeros. O DNA telomérico é ligado pelo complexo *shelterin*, transcrito em um RNA contendo uma repetição telomérica não codificante longa (TERRA) e empacotado em uma configuração de loop t (loop telomere). Subunidades Shelterin incluem TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 e POT1. 8
- Figura 4 - Representação da relação do desbalanço entre o encurtamento do telômero e a exposição ambiental/ocupacional. 11
- Figura 5 - Fluxograma do projeto de pesquisa. 17
- Figura 6 – Gráfico representativo da amplificação do TEL STD. As diferentes cores representam os pontos da curva e amostras analisadas em triplicatas. A linha horizontal vermelha representa o *threshold* com  $\Delta Rn = 0,1$ . Esta Figura foi retirada como saída do *software* QuantStudio Real Time. 26
- Figura 7 - Gráfico representativo da curva padrão do TEL STD. Os pontos em vermelho representam a curva padrão, do TEL STD. Os pontos azuis representam as amostras de indivíduos expostos e não expostos. Todos os pontos são representações das triplicatas do experimento. Foram obtidos um fator de correlação de  $R^2 = 0,998$  e uma eficiência de  $Eff\% = 90,606$ . 26
- Figura 8 - Gráfico representativo da amplificação do 36B4 STD. As diferentes cores representam os pontos da curva e amostras analisadas em triplicatas. A linha

horizontal vermelha representa o *threshold* com  $\Delta Rn = 0,13$ . Esta Figura foi retirada como saída do *software* QuantStudio Real Time. 27

Figura 9 - Gráfico representativo da curva padrão do 36B4 STD. Os pontos em vermelho representam a curva padrão, do 36B4 STD. Os pontos azuis representam as amostras de indivíduos expostos e não expostos. Todos os pontos são representações das triplicatas do experimento. Foram obtidos um fator de correlação de  $R^2 = 1$  e uma eficiência de  $Eff\% = 95,002$ . 27

Figura 10 - Agrotóxicos mais utilizados pelos trabalhadores rurais na região de Barretos, SP classificados de acordo com a sua toxicidade e carcinogenicidade. Classificação toxicológica da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) I = extremamente tóxico, II = altamente tóxico, III = mediante tóxico, IV = pouco tóxico. Classificação da carcinogenicidade da Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) Grupo1 = agente carcinogênico, Grupo2A = provavelmente carcinogênico, Grupo2B = possivelmente carcinogênico, Grupo3 = não classificado como carcinogênico, Grupo4 = não é carcinogênico. 30

Figura 11 - Gráfico representativo da comparação do comprimento dos telômeros entre os grupos de expostos (N=81) e não expostos (N=81). Foi utilizado o teste de Mann-Whitney, não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos  $p = 0,153$ . O gráfico de barras demonstra os dados representando o mínimo, quartil inferior, mediana, quartil superior e máximo. 31

Figura 12 - Gráfico representativo da comparação entre os indivíduos não expostos e expostos estratificados conforme a idade de  $\leq 49$  anos (N=40) e  $\geq 50$  anos (N= 41). O gráfico de barras demonstra os dados representando o mínimo, quartil inferior, mediana, quartil superior e máximo. 35

**Figura 13** – Gráfico Forest Plot com os coeficientes de regressão (intervalo de confiança de 95%) para o comprimento do telômero em relação a exposição aos agrotóxicos (Regressão Linear Múltipla). 37

**Figura 14** - Gráfico representativo da comparação do comprimento dos telômeros entre os grupos de expostos (49) e não expostos (59). Foi utilizado o teste de Mann-Whitney e observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos  $p=0,009$ . O gráfico de barras demonstra os dados representando o mínimo, quartil inferior, mediana, quartil superior e máximo. 39

**Figura 15** - Gráfico representativo da comparação entre os indivíduos não expostos e expostos da construção civil estratificados conforme a idade de até 39 anos e mais de 40 anos. O grupo exposto com idade até 39 foi composto por 29 indivíduos enquanto o grupo exposto com mais de 40 anos foi composto por 15 indivíduos. O grupo não exposto com idade até 39 foi composto por 27 indivíduos enquanto o grupo exposto com mais de 40 anos foi composto por 16 indivíduos. 42

**Figura 16** – Gráfico Forest Plot com os coeficientes de regressão (intervalo de confiança de 95%) para o comprimento do telômero em relação a exposição a metais (Modelo de regressão linear). 45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Oligonucleotídeos utilizados no ensaio de comprimento absoluto dos telômeros.	21
<b>Tabela 2</b> - Características do grupo exposto e não exposto a agrotóxicos.	29
<b>Tabela 3</b> - Análise da relação das variáveis sexo, etnia, fumo, bebida, uso de EPI (completo e com máscara) com o comprimento absoluto dos telômeros entre os trabalhadores rurais	32
<b>Tabela 4</b> - Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação ao consumo de maço de cigarros.	33
<b>Tabela 5</b> - Análise de correlação entre as variáveis idade e tempo de exposição com comprimento dos telômeros.	34
<b>Tabela 6</b> - Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação a idade ( $\leq 49$ anos / $\geq 50$ anos) e exposição.	35
<b>Tabela 7</b> – Modelo de regressão linear múltipla para o comprimento do telômero em relação a exposição aos agrotóxicos (Método Backward).	36
<b>Tabela 8</b> – Características do grupo exposto e não exposto no ambiente da construção civil	38
<b>Tabela 9</b> – Análise da relação das variáveis etnia, fumo, bebida, uso de EPI (completo e com máscara) com o comprimento absoluto dos telômeros.	40
<b>Tabela 10</b> – Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação a exposição ao ambiente da construção civil.	41
<b>Tabela 11</b> - Análise de correlação entre as variáveis idade e tempo de exposição com comprimento dos telômeros.	41

**Tabela 12** – Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação a idade ( $\leq 39$  anos e  $\varepsilon 40$  anos) e exposição. 43

**Tabela 13** - Metais analisados nos grupos da construção civil e do setor administrativo. 43

**Tabela 14** - Modelo de regressão linear para o comprimento do telômero em relação a exposição a metais (Método Backward). 44

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>CPOM</b>	Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular
<b>DRS</b>	Departamentos Regionais de Saúde
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>EPA</b>	<i>Environmental Protection Agency's</i>
<b>HCB</b>	Hospital de Câncer de Barretos
<b>IARC</b>	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
<b>OSHA</b>	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>aTL</b>	Comprimento absoluto de telômero
<b>MP</b>	Material Particulado
<b>qPCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\beta$	Beta
=	Igual
$\leq$	Menor ou igual
$\geq$	Maior ou igual
%	Porcentagem

## RESUMO

**Introdução:** As exposições no ambiente de trabalho representam uma crítica questão de saúde pública em todo mundo, pois concentram, em maior grau, substâncias consideradas cancerígenas, maiores do que em outros ambientes não laborais. A exposição na atividade laboral a agrotóxicos e a diversos agentes no âmbito do ambiente da construção civil se encaixam nesse cenário e são alvo desse estudo. O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo. Devido à sua toxicidade intrínseca, esses agrotóxicos podem causar alguns efeitos deletérios como, alergias, distúrbios gastrintestinais, respiratórios, endócrinos, reprodutivos e neurológicos e o câncer. Por outro lado, os trabalhadores da construção civil estão constantemente expostos a uma gama de agentes conhecidamente cancerígenos associados principalmente a problemas respiratórios e o câncer de pulmão. **Objetivo:** Este projeto visa analisar o comprimento dos telômeros como um possível biomarcador para associação da influência da exposição a esses agentes no risco de desenvolvimento de câncer em indivíduos expostos e comparado com um grupo não exposto. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo observacional transversal que analisou grupos de indivíduos expostos (trabalhadores rurais e trabalhadores da construção civil) não expostos (que foram recrutados no município de Barretos e trabalhadores do Hospital de Câncer de Barretos. Foram analisados participantes divididos em: Indivíduos não expostos aos agrotóxicos, Indivíduos expostos aos agrotóxicos; Trabalhadores da construção civil e Indivíduos do setor administrativo do Hospital de Câncer de Barretos. Para avaliação do comprimento dos telômeros de todos os indivíduos foi utilizada a metodologia de PCR em Tempo Real. **Resultados:** O comprimento dos telômeros avaliado no grupo de trabalhadores rurais quando comparado ao grupo não exposto, verificou-se que não ocorreu diferença estatisticamente significativa. Análises de regressão linear múltipla revelaram que o consumo de maços de cigarros, levou a uma redução do comprimento dos telômeros. Ao avaliarmos o comprimento do telômero frente a alguns agrotóxicos, verificou-se que o uso de Abamectina levou um aumento do comprimento telomérico ( $\beta=23,990$ ), enquanto o uso da Cipermetrina teve um efeito contrário ( $\beta= -18,40$ ). Em relação às análises de comprimento dos telômeros realizadas no grupo da construção civil, foi verificado um comprimento menor no grupo exposto em relação ao grupo não exposto ( $p\leq 0,009$ ). Nas análises de regressão foi verificado que a exposição leva a redução do comprimento dos telômeros. Por meio de uma regressão linear, verificou-se que dois tipos de

metais influenciaram o comprimento do telômero, sendo eles o Arsênio que levou a uma diminuição do comprimento ( $\beta = -3,12$ ,  $p \leq 0,001$ ), enquanto o Chumbo teve um efeito contrário ( $\beta = 1,14$ ,  $p = 0,019$ ). **Conclusão:** Foi possível neste estudo verificar diferenças no comprimento dos telômeros entre os grupos e realizar a comparação com os dados sócio- demográficos. Dessa forma, podemos destacar a importância da utilização de biomarcadores, como o comprimento dos telômeros, para a avaliação da instabilidade genômica em relação a exposição ocupacional a agentes carcinogênicos.

**Palavras-chaves:** telômeros, agrotóxicos, construção civil, exposição ocupacional, câncer e trabalhadores rurais.

## ABSTRACT

**Introduction:** Exposures in the workplace represent a critical public health issue around the world, as they concentrate, to a greater degree, substances considered carcinogenic, greater than in other non-work environments. Exposure in the workplace to pesticides and various agents within the civil construction environment fit into this scenario and are the target of this study. Brazil is one of the largest pesticide consumers in the world. Due to their intrinsic toxicity, these pesticides can cause some deleterious effects such as allergies, gastrointestinal, respiratory, endocrine, reproductive and neurological disorders and cancer. On the other hand, construction workers are constantly exposed to a range of known carcinogens mainly associated with respiratory problems and lung cancer. **Aim:** To analyze telomere length as a possible biomarker for the association of the influence of exposure to these agents on the risk of developing cancer in exposed individuals and compared with an unexposed group.

**Materials and Methods:** This is a cross-sectional observational study that analyzed groups of exposed individuals (rural workers and civil construction workers) who were not exposed (who were recruited from Barretos and workers from the Barretos Cancer Hospital. Participants were analyzed and divided into: Individuals not exposed to pesticides, Individuals exposed to pesticides, Civil construction workers and Individuals from the administrative sector of the Barretos Cancer Hospital. To evaluate the telomere length of all individuals, the Real Time PCR methodology was used. **Results:** The group of rural workers when compared to the unexposed group did not show a statistically significant difference in telomere length. Multiple linear regression analyzes revealed that cigarette pack consumption led to a reduction in telomere length. When evaluated the telomere length against some pesticides, it was found that the use of Abamectin led to an increase in telomere length ( $\beta=23.990$ ), while the use of Cypermethrin had an opposite effect ( $\beta = -18.40$ ). In regarding telomere length analysis performed in the civil construction group, a shorter length was found in the exposed group compared to the non-exposed group ( $p\leq 0.009$ ). In the regression analysis, it was verified that exposure leads to a reduction in telomere length. Through a linear regression, it was found that two types of metals influenced the telomere length, being them Arsenic, which led to a decrease in length ( $\beta= -3.12$ ,  $p\leq 0.001$ ), while Lead had an opposite effect ( $\beta = 1.14$ ,  $p=0.019$ ).

**Conclusion:** In this study, it was possible to verify differences in telomere length between the

groups and to make a comparison with socio-demographic data. Thus, we can highlight the importance of using biomarkers, such as telomere length, for the assessment of genomic instability in relation to occupational exposure to carcinogenic agents.

**Key words:** telomeres, pesticides, civil construction, occupational exposure, cancer and rural workers.

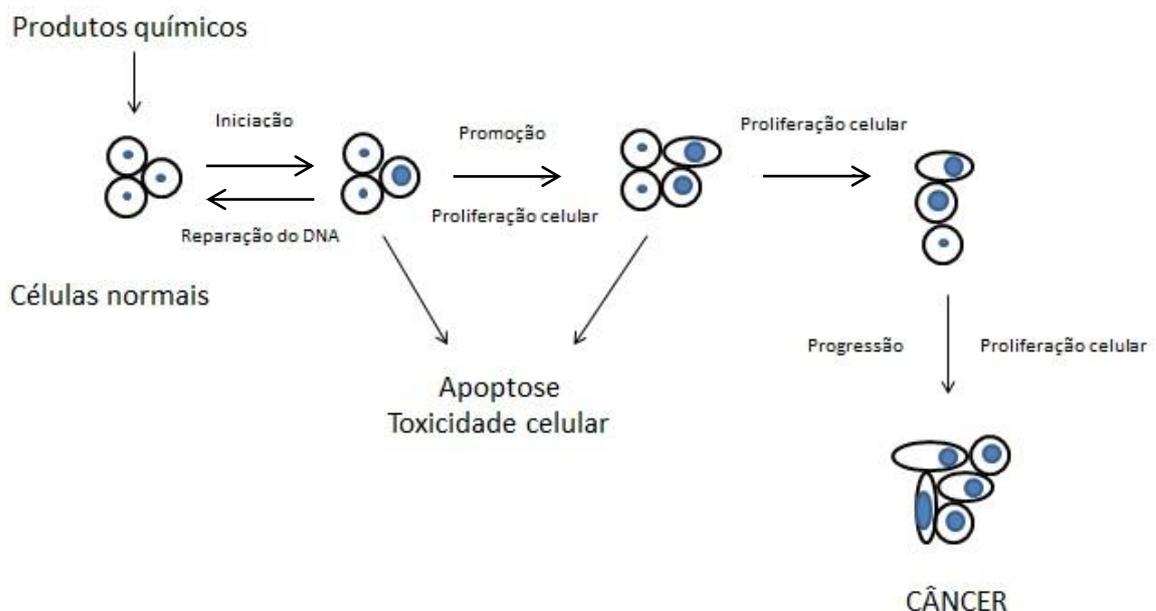
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 O câncer relacionado ao trabalho

O câncer representa uma importante questão de saúde pública, visto que é considerado a quarta maior causa de morte em todo o mundo<sup>1</sup>. Estimativas apontam que estão previstos 26,9 milhões de novos casos de câncer em todo o mundo até o ano de 2025<sup>2</sup>.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% dos casos de câncer está relacionado a fatores ambientais, sendo muitas vezes considerados evitáveis, em maior ou menor grau<sup>1</sup>. Dentre esses fatores encontram-se água, terra, ar, ambiente de consumo (como tipo de alimentação, medicamentos utilizados, etilismo, tabagismo) ambiente cultural (costumes, estilos) e o ambiente ocupacional<sup>1</sup>.

Por outro lado, é conhecida a relação dos agentes químicos no processo de carcinogênese ambiental. A Figura 1 representa o processo de carcinogênese e seus estágios, a partir da exposição. O primeiro é a iniciação, no qual os genes já são afetados e modificados pelos agentes cancerígenos e passam por uma modificação. Em segundo, a fase da promoção na qual ocorre o processo de transformação da célula normal em maligna e pôr fim a fase de progressão na qual é formado o tumor e que ocorre a manifestação clínica no paciente<sup>3</sup>.



Fonte: Adaptado de Oliveira et al., 2007<sup>3</sup>

Figura 1 - Processo de carcinogênese e seus estágios de iniciação, promoção e proliferação. A fase de iniciação, na qual ocorrem alterações no DNA devido a uma exposição a carcinogênicos, seguida pela fase de promoção ocorrendo à formação de células malignas e pôr fim a fase de progressão culminando no surgimento do tumor.

No âmbito da exposição ocupacional, a concentração de substâncias carcinogênicas é maior do que em ambientes extra laborais. Somando-se a isso, a falta de políticas públicas de saúde voltadas a esses indivíduos expostos ocupacionalmente aumenta os riscos do aparecimento de doenças relacionadas ao trabalho como o câncer<sup>4</sup>.

O câncer cuja causa total ou parcial se dá pela exposição a agentes cancerígenos no trabalho ou por circunstâncias no trabalho são chamados de cânceres relacionados ao trabalho, os tipos de câncer que apresentam maior associação a exposição ocupacional são o câncer de pulmão, mesotelioma e câncer de bexiga<sup>5</sup>.

Historicamente, um dos primeiros estudos a retratar a relação entre exposição ocupacional e câncer foi realizado em 1775, por Percivall Pott que observou uma associação entre a exposição de limpadores de chaminés à fuligem e o desenvolvimento de câncer escrotal<sup>6</sup>.

As monografias da IARC (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer) classificam quase duzentas exposições como carcinogênicas ou provavelmente carcinogênicas para humanos<sup>7</sup>.

Um potencial carcinógeno relacionado a ocupação, de acordo com a *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) é definido como qualquer substância, combinação ou mistura de substâncias que provocam o aumento da incidência de neoplasias ou redução substancial no período de latência entre a exposição e o aparecimento da doença em humanos ou mamíferos<sup>2</sup>.

No Brasil as pesquisas voltadas aos casos de câncer relacionados ao trabalho ainda são escassas tanto no campo epidemiológico como molecular o que torna estudos direcionados a essas exposições fundamentais para o entendimento do potencial carcinogênico dos agentes no processo e melhores medidas de prevenção e saúde. No presente estudo são abordadas duas exposições ocupacionais cujos trabalhadores estão expostos a agentes carcinogênicos, sendo elas a exposição a agrotóxicos e a exposição aos diversos agentes nocivos no âmbito da construção civil.

## 1.2 Exposição aos agrotóxicos e Câncer

Agrotóxicos são amplamente utilizados em todo o mundo<sup>8</sup>. São constituídos por uma gama de químicos e possuem função de controle, principalmente, de pragas e ervas daninhas<sup>9</sup>. Nos últimos cinquenta anos, a agricultura sofreu uma profunda mudança com o crescimento massivo do uso de agrotóxicos para melhorar a produção e proteção da colheita, assim como a qualidade e preservação do alimento. Agrotóxicos também são cada vez mais utilizados para fins de saúde pública e para uso doméstico<sup>8</sup>.

O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxico no mundo<sup>10</sup>. Segundo dados da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) o consumo desses produtos difere nas várias regiões do país, nas quais se misturam atividades agrícolas intensivas e tradicionais, sendo que estas últimas não incorporaram o uso intensivo de produtos químicos. Os agrotóxicos têm sido mais utilizados nas regiões Sudeste (cerca de 38%), Sul (31%) e Centro-Oeste (23%), sendo o Estado de São Paulo o principal consumidor do país<sup>10</sup>.

O uso intensivo de agrotóxicos pode causar vários impactos, tanto no campo ambiental, social, como na área da saúde. Estes impactos são custeados por toda a população por meio de gastos públicos com recuperação de áreas contaminadas, prevenção, diagnóstico e tratamento de intoxicações agudas e crônicas, afastamentos e aposentadorias por invalidez de trabalhadores rurais e até mortes por utilização dessas substâncias, sem que haja a socialização desses custos de responsabilidade direta das indústrias químicas<sup>11</sup>.

Nos Estados Unidos, a carcinogenicidade dos pesticidas é avaliada pela Agência de Proteção Ambiental (*Environmental Protection Agency's* – EPA), e um número grande de agrotóxicos vem sendo associado ao desenvolvimento de vários tipos de câncer, segundo investigações epidemiológicas<sup>12, 13</sup>. Alguns efeitos crônicos de saúde têm sido ligados à exposição aos pesticidas, incluindo efeitos neurológicos, reprodutivos ou problemas de desenvolvimento e câncer<sup>14</sup>. Estudos epidemiológicos em trabalhadores expostos ou acidentalmente expostos, fabricantes de pesticidas e pulverizadores têm demonstrado que a exposição aos pesticidas pode aumentar o risco de cânceres específicos, sendo eles: leucemias, sarcoma de Ewing, câncer de rim, linfoma não-Hodgkin, tumores cerebrais, entre outros. Segundo o estudo de coorte americano, *Agricultural Health Study*, realizado desde 1997 até os dias atuais, com mais de 40.000 trabalhadores rurais, têm revelado que a exposição aos agrotóxicos tem o risco aumentado para os tipos de leucemia, mieloma

múltiplo, Linfoma Não-Hodgkin, próstata e bexiga<sup>15</sup>. Além disso, crianças, gestantes, lactantes e idosos expostos aos agrotóxicos em suas casas ou cujos familiares foram expostos aos pesticidas também podem ter o risco de câncer aumentado<sup>16</sup>.

A IARC publicou recentemente a Monografia volume 112 que classificou o herbicida glifosato e os inseticidas malationa e diazinona como prováveis agentes carcinogênicos para humanos (Grupo 2A) e os inseticidas tetraclorvinfós e parationa como possíveis agentes carcinogênicos para humanos (Grupo 2B)<sup>17</sup>. Vale destacar que a malationa, diazinona e o glifosato são autorizados e amplamente usados no Brasil como inseticidas em campanhas de saúde pública para o controle de vetores e na agricultura<sup>2</sup>.

Em relação ao ambiente, muitos pesticidas envolvidos no risco cancerígeno, e classificados como prováveis ou possíveis carcinogênicos pelas agências internacionais, foram proibidos ou seu uso é restrito em alguns países, mas, devido à sua bioacumulação e persistência nos ecossistemas, são difundidos como poluentes ambientais. Resíduos destes pesticidas foram detectados na cadeia alimentar em diferentes meios biológicos em seres humanos<sup>14</sup>.

#### **1.4 O ambiente da construção civil e os agentes carcinogênicos**

Os trabalhadores da construção civil estão constantemente expostos a uma variedade de agentes considerados carcinogênicos pela IARC e conhecidamente nocivos à saúde<sup>18</sup>. Entre esses agentes encontram-se o amianto, também chamado de asbesto, que possui várias formas (crisotila, crocidolita, amosita, tremolita, actinolita e anfibólio) e segundo uma avaliação recente da IARC, todas essas formas foram classificadas como cancerígenas para humanos<sup>17</sup>. A exposição ao amianto no âmbito ocupacional se dá através de demolições e renovações de construções, como também na fabricação de caixas d'água, telhas em geral, revestimentos, tintas, entre outras tarefas<sup>18</sup>.

A maioria dos países da América Latina ainda utiliza o amianto e sua produção chega a representar 10% de toda a produção mundial (o equivalente a 200 mil toneladas por ano)<sup>19</sup>. O Brasil possui produção autossuficiente de amianto e exporta cerca de 30% desse agente<sup>18</sup>. O uso de asbestos foi proibido em todos os países da União Européia, no Brasil o banimento ocorreu em 2019, porém as empresas ainda utilizam como matriz o amianto<sup>7</sup>. A exposição ao amianto é uma questão crítica para a saúde pública visto que uma relação causal foi verificada

entre a exposição a esse agente e suas diferentes formas e o risco aumentado para mesotelioma e câncer de pulmão<sup>19</sup>.

Podemos salientar também a sílica cristalina em pó mineral respirável, pó de madeira, emissões de exaustão de motor diesel, fumaça de soldagem, pó de farinha, fumaça de betume e fumaça de cura de borracha são alguns exemplos de outros agentes gerados por processos laborais diários que afetam milhões de trabalhadores ligados ao ambiente da construção civil diariamente<sup>5</sup>.

Outros agentes a que os trabalhadores da construção civil estão expostos são os poluentes atmosféricos, entre eles o material particulado (MP) que também está associado ao câncer de pulmão<sup>18</sup>. O MP pode ser composto por cimento, argamassa, amianto, poeira e outras fontes, sendo que essas partículas se acumulam no trato respiratório, e é responsável pelo aumento do risco de doenças respiratórias.

A sílica, mineral encontrado em areia e rochas, é muito utilizada como produto final em muitos processos industriais, inclusive no ambiente da construção civil<sup>18</sup>. A sílica está classificada segundo a IARC no grupo I, ou seja, reconhecidamente cancerígena para humanos. Os trabalhadores estão expostos através da inalação de poeira o que pode causar silicose, uma fibrose pulmonar que aumenta o risco de desenvolvimento de câncer pulmonar e outras doenças respiratórias<sup>18</sup>.

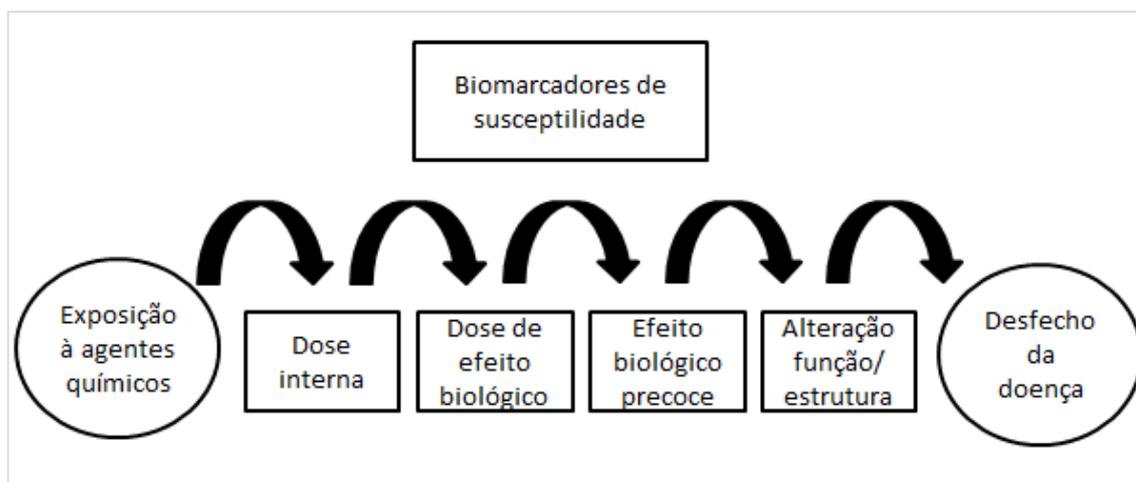
Portanto essas exposições representam um problema crítico de saúde pública, visto que há uma relação causal entre a exposição a esses agentes e o aumento do risco de determinados tipos de câncer<sup>18</sup>. Recentemente, trabalhos realizados pelo nosso grupo de pesquisa evidenciaram vários biomarcadores alterados nos trabalhadores expostos ao ambiente da construção civil, dentre eles, status de metilação e frequência de micronúcleos<sup>18</sup>. Assim a investigação de biomarcadores de exposição, que podem elucidar sobre a influência dos carcinógenos em diferentes processos ou vias biológicas é fundamental para elucidar a susceptibilidade de populações ocupacionalmente expostas e também pode fortalecer políticas públicas de prevenção.

Dessa forma, pode-se afirmar que a exposição ocupacional a diferentes agentes constitui um problema de saúde pública. E por isso, é fundamental determinar o risco à saúde dos trabalhadores causados pela exposição. O potencial genotóxico é um fator de risco para efeitos de longo prazo, tais como, carcinogênico, reprodutivo e doenças degenerativas. Assim, uma das ferramentas para determinação da genotoxicidade são os estudos de

biomonitoramento. Alguns já foram realizados enfocando análises de modificações genômicas em populações expostas em diferentes países, com o intuito de elucidar o risco associado à exposição a compostos específicos ou classes de compostos ou de práticas de cultivo específicos<sup>9, 14, 20</sup>. O processo de carcinogênese envolve processos que acometem a instabilidade genômica, e assim, diante dessas evidências, torna-se de grande importância avaliar o efeito dos agentes genotóxicos precocemente sobre as células, utilizando biomarcadores de exposição e/ou susceptibilidade<sup>21</sup>.

### 1.5 Biomarcadores de exposição/susceptibilidade

Biomarcadores de susceptibilidade são, geralmente, indicadores de um estado biológico. Possuem uma alta sensibilidade aos efeitos de um agente ambiental sendo objetivamente medidos em um sistema biológico ou em uma amostra<sup>22</sup>. São ferramentas importantes para a detecção de eventos genotóxicos em populações expostas<sup>23</sup>. Como demonstrado na Figura 2, os biomarcadores de susceptibilidade podem ser utilizados para analisar os efeitos genotóxicos desde a exposição química/ambiental, até o desfecho da doença.



Fonte: Adaptado de Andrew Rundle & Sharon Schwartz, 2003.

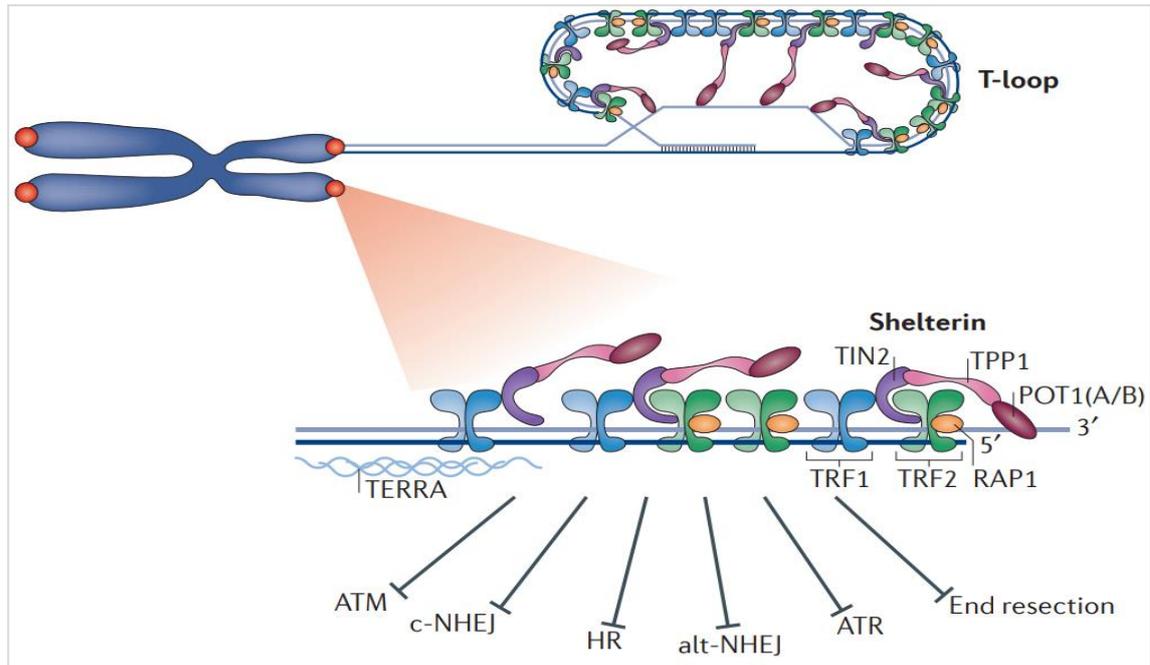
Figura 2 – Representação das categorias de biomarcadores de susceptibilidade desde à exposição à agentes químicos até o desfecho da doença.

A identificação de biomarcadores de exposição/susceptibilidade potencialmente sensíveis e específicos a serem validados em contextos ocupacionais é fundamental em processos de avaliação de risco por biomonitoramento<sup>24</sup>.

Vários biomarcadores de avaliação genética de análise de efeito precoce estão disponíveis para avaliação de respostas genotóxicas transitórias e permanentes, porém em estudos de biomonitoramento em populações expostas ocupacionalmente, os mais utilizados são aberrações cromossômicas, frequência de micronúcleos e trocas de cromátides irmãs<sup>9</sup>. Recentemente, o comprimento do telômero também se tornou um biomarcador de análise de efeito precoce da instabilidade genômica<sup>25</sup>.

### **1.6 Comprimento do telômero e Câncer**

Os telômeros são compostos por regiões repetitivas de DNA (5'-TTAGGG-3') associado a um complexo de seis proteínas associadas denominadas *shelterin*<sup>25</sup> (Figura 3) que se encontram no final dos cromossomos. Sua principal função é de proteger os cromossomos de rearranjos de DNA e fusões cromossômicas de extremidade-a-extremidade, uma vez que é responsável por enviar um sinal que permite à maquinaria de reparo de DNA celular distinguir os telômeros das quebras de fita dupla do DNA<sup>26</sup>. O complexo shelterin é composto por seis proteínas (Fator de ligação de repetição telomérica 1 (TERF1), TERF2, Fator de ligação de repetição telomérica 2 (TERF2), TRF1 - proteína nuclear de interação -2 (TIN-2), Proteção de telômeros 1 (POT1), Repressor e proteína ativadora 1 (Rap-1) e TPP1 ou homólogo de proteína de displasia adrenocortical (ACD) e é conhecido por telossomo, por sua função em proteger o telômero<sup>27</sup>.



Fonte: Adaptado de Lazzerini-Denchi, Eros; Sfeir, Agnel, 2016).

Figura 3 - Visão geral da composição e função dos telômeros. O DNA telomérico é ligado pelo complexo *shelterin*, transcrito em um RNA contendo uma repetição telomérica não codificante longa (TERRA) e empacotado em uma configuração de loop t (loop telomere). Subunidades Shelterin incluem TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 e POT1.

Os telômeros possuem também papéis estabelecidos no envelhecimento biológico<sup>28</sup>. O comprimento do telômero naturalmente diminui com a idade devido à replicação incompleta do DNA telomérico em cada divisão celular. Quando os telômeros encurtam drasticamente, ocorre a morte da célula, pois o mecanismo de apoptose é acionado<sup>15</sup>. Estudos tem associado o encurtamento dos telômeros com doenças relacionadas à idade, como as cardiovasculares, comprometimento cognitivo e o risco de câncer<sup>28</sup>.

Durante o desenvolvimento de um câncer, as células são capazes de se dividir indefinidamente, alterando o comprimento telomérico. Isso pode ocorrer através de mecanismos, como a ativação da enzima telomerase<sup>29</sup>. A enzima telomerase é um grande complexo de ribonucleoproteína com várias subunidades, que adiciona repetições teloméricas de DNA no final dos cromossomos, recompensando assim, a perda de sequências finais dos cromossomos durante a divisão celular<sup>29</sup>. Foi verificado que em humanos, a atividade da telomerase é regulada por um complexo de dois componentes principais: a transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT) codificada pelo gene *TERT*, que atua como uma proteína catalítica funcional com capacidade de transcriptase reversa, e o

componente de RNA (também conhecido como RNA da telomerase humana componente: hTERC ou hTR) que atua como um modelo para a transcrição reversa. Ambos os componentes estão localizados na região cromossômica 5p15.33 e 3q26, respectivamente, em humanos<sup>27</sup>.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que longos telômeros estão associados com vários tipos de câncer dentre eles, pulmão, mama e melanoma entre outros<sup>25</sup>. Por outro lado, o encurtamento do telômero está associado ao envelhecimento e ao risco de câncer. Dessa forma, pode-se salientar que o encurtamento ou alongamento dos telômeros estão associados ao risco de câncer, conforme já abordado em outros estudos<sup>25, 30, 31</sup>.

A exposição ocupacional frente à xenobióticos, que são substâncias químicas as quais o organismo é exposto extrinsecamente, pode levar a danos genotóxicos, através da alteração do comprimento do telômero. A exposição ambiental e ocupacional pode ocasionar estresse oxidativo e inflamação crônica alterando fatores epigenéticos e fatores genéticos<sup>32</sup>. Portanto, a medida do comprimento dos telômeros tem sido utilizada para avaliação da instabilidade genômica das populações expostas em vários estudos.

### **1.7 Avaliação do comprimento absoluto do telômero**

Diferentes métodos são propostos para a medida do comprimento dos telômeros. Vários parâmetros estabelecem as vantagens e desvantagens de cada técnica principalmente em relação à quantidade de material requerido, a complexidade e viabilidade<sup>33</sup>. O primeiro método estabelecido foi a Análise de Fragmentos de Restrição de Telômeros. Esta metodologia é baseada em uma modificação do *Southern blot*, que avalia uma porção heterogênea de comprimentos de telômeros em uma população de células, usando a distribuição de comprimento dos fragmentos de restrição terminais<sup>34</sup>. Sendo ela o padrão ouro para análise do comprimento telomérico, ou seja, podendo validar outras metodologias<sup>33</sup>. Por outro lado, também são utilizadas as metodologias que utilizam sondas fluorescentes para medir não somente o comprimento telomérico, mas também comprimentos de telômeros de cromossomos específicos<sup>35</sup>.

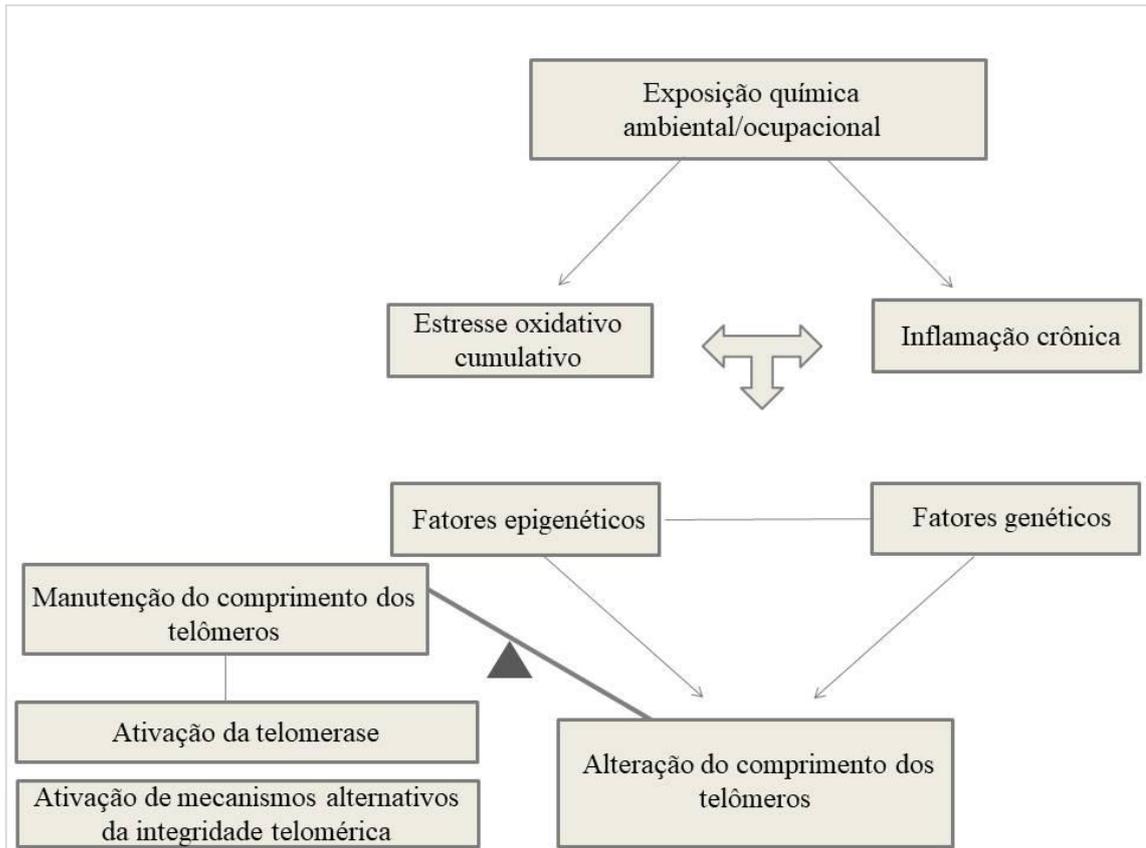
A PCR em Tempo Real (qPCR) para a mensuração e quantificação telomérica foi desenvolvida para resolver a necessidade de grandes quantidades de material, diferentemente do *Southern Blot*. Além disso, pode facilmente ser realizada em larga escala o que é essencial para os estudos epidemiológicos. A primeira descrição foi estabelecida por

Cawthon *et al.* em 2002 e continua sendo amplamente utilizada. Esta metodologia compara a quantidade de produto amplificado do telômero com um gene de cópia simples, é medido o comprimento relativo do telômero<sup>36</sup>. Em 2011, Fenech e O'Callaghan<sup>37</sup> fizeram uma adaptação desta técnica e denominaram como método de qPCR para a medição do comprimento absoluto dos telômeros (aTL) no qual é utilizada uma curva padrão de comprimentos teloméricos conhecidos, por meio de oligos padronizados para gerar os valores aTL<sup>35, 37</sup>. Essa capacidade de geração de aTL permite uma comparação mais direta dos resultados entre experimentos e entre laboratórios diferentes (Fenech e O'Callaghan, 2011). Dessa forma a técnica de qPCR se tornou muito utilizada pois é um método de baixo custo e possui capacidade de alta produtividade.

Para análise do comprimento absoluto dos telômeros no presente estudo, será empregado o método proposto por O'Callaghan e Fenech, 2011<sup>37</sup> utilizando-se, portanto, a metodologia de PCR em Tempo Real. A principal vantagem desse método é que necessita de pequenas quantidades de DNA e possui um formato de alto rendimento.

## **1.8 Comprimento do Telômero e a exposição ocupacional**

A exposição ocupacional frente a xenobióticos, que são substâncias químicas as quais o organismo é exposto extrinsecamente, pode levar a danos genotóxicos, através da alteração do comprimento do telômero. A exposição ambiental e ocupacional pode ocasionar estresse oxidativo e inflamação crônica alterando fatores epigenéticos e fatores genéticos<sup>32</sup>. A Figura 4 traz uma representação destas possíveis interações. Portanto, a medida do comprimento dos telômeros tem sido utilizada para avaliação da instabilidade genômica das populações expostas em vários estudos.



Fonte: Adaptado de Zhang *et al.*, 2013.

Figura 4 - Representação da relação do desbalanço entre o encurtamento do telômero e a exposição ambiental/ocupacional.

Andreotti *et al* publicaram, em 2015<sup>15</sup>, um estudo no qual analisaram a associação entre exposição a agrotóxicos e comprimento relativo dos telômeros. Para isso avaliaram essa associação em três períodos diferentes dentro de uma coorte. Os autores analisaram o comprimento telomérico através da técnica de PCR em tempo real e seus resultados demonstraram que tanto o uso acumulativo quanto o uso recente de agrotóxicos impactaram no comprimento relativo dos telômeros. Duan *et al*, em 2017<sup>38</sup>, verificaram que a exposição a longo prazo ao pesticida omeotato pertencente ao grupo de organofosforado, causou alongamento dos telômeros que foram analisados pela técnica de PCR em tempo real.

Estudos brasileiros vêm demonstrando a influência da exposição ocupacional aos agrotóxicos e a instabilidade genômica dos trabalhadores rurais. No estudo de Kahl *et al.*, (2016)<sup>39</sup> demonstraram associação existente entre trabalhadores rurais expostos a uma mistura de agrotóxicos utilizados nas lavouras de tabaco e a diminuição no comprimento

absoluto do telômero, quando comparado com um grupo sem exposição. Em outro estudo do mesmo grupo, foi avaliado em agricultores que trabalham com cultivo de tabaco a instabilidade cromossômica, verificada pelo ensaio de micronúcleos e ensaio cometa, e comprimento dos telômeros, e a influência de polimorfismos dos genes *PON1*, *SOD2*, *OGG1*, *XRCC1* e *XRCC4*. Foi evidenciado neste trabalho que a formação de micronúcleos e o comprimento dos telômeros estão relacionados ao aumento do estresse oxidativo diante da exposição à mistura de agrotóxicos <sup>40</sup>.

Outro estudo recente de Kahl *et al.*, 2018<sup>41</sup> analisou o efeito da ingestão alimentar e polimorfismos de susceptibilidade genética em *MTHFR* (rs1801133) e *TERT* (rs2736100) em trabalhadores da plantação de tabaco expostos a uma mistura de agrotóxicos e seus respectivos controles, não expostos, sendo 80 indivíduos envolvidos no estudo. Os resultados demonstraram um comprimento telomérico menor nos trabalhadores expostos em relação aos não expostos e os experimentos foram realizados pela PCR em tempo real. Quanto aos genótipos, *MTHFR* CT/TT influenciou o aumento de pontes nucleoplasmáticas e brotamentos nucleares e alterou o comprimento telomérico, enquanto o *TERT* GT/TT, foi correlacionado apenas com a frequência de micronúcleos. Essas alterações foram verificadas no grupo exposto.

Saad-Hussein *et al* (2019)<sup>42</sup>, realizaram um estudo cujo objetivo era estimar novos biomarcadores para detecção precoce de câncer hepático em trabalhadores ocupacionalmente expostos a agrotóxicos com diferentes padrões de vida socioeconômicos. Os grupos analisados foram indivíduos com um grupo de 50 pesquisadores urbanos não expostos a agrotóxicos e 50 trabalhadores rurais. Entre os biomarcadores analisados, consta a avaliação do comprimento telomérico e a atividade da enzima telomerase. Nos indivíduos expostos verificou-se um encurtamento do comprimento dos telômeros e uma diminuição da atividade da enzima telomerase em comparação ao grupo não exposto.

Um estudo realizado por Wang *et al* (2019)<sup>43</sup>, analisou a correlação entre polimorfismos dos genes codificadores de miRNAs e também o comprimento telomérico em 180 trabalhadores expostos a omeotato e 115 indivíduos não expostos. O comprimento dos telômeros, após uma análise de covariância, demonstrou ser maior, dentro do grupo não exposto, em mulheres. O alongamento do comprimento relativo dos telômeros foi associado aos genótipos AG + GG do polimorfismo rs353291 da sequência de DNA codificadora do miR-145 nos trabalhadores expostos ao omeotato. Outro estudo recente com trabalhadores de

plantações soja, verificou-se danos genéticos causados por pela exposição aos pesticidas. Neste trabalho foi realizada a metodologia de PCR tempo real baseada no protocolo de Cawthon, 2002<sup>36</sup>, porém não se verificou diferença no comprimento dos telômeros nos grupos de expostos e não expostos<sup>44</sup>.

Zhou *et al* 1 (2021), realizaram um estudo correlacionando a exposição ao omeotato com o comprimento do telômero e polimorfismos em determinados genes da proteína de ligação aos telômeros dos trabalhadores<sup>45</sup>. Para tanto, eles realizaram uma análise por PCR em tempo real de leucócitos periféricos em 180 trabalhadores expostos e 115 indivíduos não expostos. Em conclusão, o genótipo GG no *TRF 1* rs3863242 está ligado ao prolongamento do comprimento dos telômeros nos trabalhadores quando comparados aos não expostos.

Um outro estudo, também realizado por Zhou *et al* 2 (2021), com a mesma população teve como objetivo explorar a associação entre variações genéticas nos genes da via dos telômeros e o nível de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em trabalhadores expostos ao inseticida ometoato<sup>46</sup>. Foi verificado um aumento do nível de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> associado à exposição ao ometoato e aos genótipos AA + AT no gene *POT1* rs1034794. Esse resultado forneceu uma nova ideia de que polimorfismos em genes da via dos telômeros podem regular indiretamente o comprimento dos telômeros ao influenciar o estresse oxidativo.

Outras exposições também estão relacionadas com a alteração do comprimento do telômero. Hou *et al.*, 2020, realizaram um estudo com indivíduos expostos a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e ftalatos entre o inverno de 2014 e o verão de 2015 na cidade de Wuhan, China<sup>47</sup>. Os resultados indicaram que os metabólitos do ftalato urinário podem neutralizar a associação negativa de OH-PAHs (monohidroxilados-PAHs) urinários no VEF1 (volume expiratório forçado 1) ou CVF (capacidade vital forçada), o que pode estar parcialmente relacionado a um comprimento telomérico mais curto em relação ao envelhecimento biológico.

Gaikwad *et al.*, 2020<sup>48</sup> conduziram um estudo o qual pretendia avaliar o material particulado (MP) no local de trabalho e os biomarcadores relacionados aos efeitos da genotoxicidade entre um grupo de trabalhadores de asfalto em Bangalore, Índia. Este estudo envolveu 107 participantes (sendo 54 indivíduos do grupo exposto e 53 do grupo não exposto). Para tanto o 8-OHdG urinário e o comprimento relativo dos telômeros foram utilizados como biomarcadores de dano oxidativo enquanto o ensaio de micronúcleo (MN) foi

utilizado para dano citogenético. O comprimento do telômero teve uma redução significativa no grupo exposto, quando comparado ao grupo não exposto.

Um estudo realizado com trabalhadores da cidade de Monteria-Córdoba expostos a compostos liberados pela atividade de soldagem teve como objetivo analisar o potencial citotóxico e genotóxico desses agentes. A população do estudo contou com 198 voluntários do sexo masculino: 98 soldadores com exposição aos fumos da soldagem e 100 trabalhadores urbanos sem histórico de exposição. Diferentemente de outros estudos, o comprimento do telômero foi maior no grupo exposto quando comparado ao grupo não exposto<sup>49</sup>.

Assim, o comprimento do telômero pode servir como um indicador de exposição a químicos, considerando o ambiente ocupacional. Por outro lado, é importante uma caracterização da correlação entre comprimento de telômero a exposição ocupacional agentes carcinogênicos. Dessa forma, mais estudos são importantes porque podem ajudar a elucidar o papel deste biomarcador em estudos de biomonitoramento de populações expostas a carcinógenos.

## 2. JUSTIFICATIVA

A exposição ocupacional é um dos fatores ambientais relacionados à ocorrência de câncer. Nos países em desenvolvimento esta porcentagem pode alcançar os 15% na ocorrência de casos de câncer. No Brasil, destaca-se o consumo de agrotóxicos e a população mais exposta são os trabalhadores rurais. Além disso, o Estado de São Paulo os agrotóxicos são amplamente utilizados, sendo o primeiro colocado em consumo no país. Os trabalhadores expostos aos agrotóxicos têm contato com vários princípios ativos dos pesticidas, sabe-se que alguns destes produtos são classificados pela Organização Mundial de Saúde como potenciais carcinogênicos. Podemos salientar que estes trabalhadores não utilizam Equipamentos de Proteção Individual o que aumenta a exposição aos princípios ativos, não existem no Brasil programas de conscientização sobre o uso de agrotóxicos para os trabalhadores da agricultura familiar. Neste mesmo sentido, outra importante população a ser estudada quanto a exposição ocupacional são os trabalhadores do setor da construção, os quais estão expostos a uma variedade de agentes carcinogênicos já classificados como tipo I pela IARC em seu ambiente de trabalho. Além disso, estudos vêm salientando que a utilização de agrotóxicos e a exposição do ambiente da construção civil, leva a instabilidade genômica nas populações expostas. Por outro lado, é sabido que o encurtamento do telômero está relacionado com o risco de câncer. Desse modo, é importante a caracterização do comprimento dos telômeros para a avaliação de populações de risco para o possível desenvolvimento de câncer.

### **3. OBJETIVO**

Avaliar o comprimento dos telômeros como potencial biomarcador da exposição ocupacional a agentes carcinogênicos no ambiente de trabalho.

#### **3.1. Objetivos específicos**

- Otimizar e implementar a metodologia do comprimento absoluto dos telômeros nos leucócitos do sangue de trabalhadores expostos a agentes carcinogênicos.
- Avaliar o comprimento dos telômeros em um grupo de indivíduos expostos e não expostos aos agrotóxicos.
- Correlacionar os dados sociodemográficos com o comprimento absoluto dos telômeros entre os grupos não exposto e exposto aos agrotóxicos.
- Avaliar o comprimento dos telômeros em um grupo de trabalhadores da construção civil, expostos a agentes carcinogênicos, em comparação ao grupo não exposto.
- Correlacionar os dados sociodemográficos com o comprimento dos telômeros entre os grupos não exposto e exposto ao ambiente da construção civil.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Fluxograma do Projeto

Este é o fluxograma do projeto que conta com a análise do comprimento do telômero em quatro grupos, conforme demonstrado abaixo.

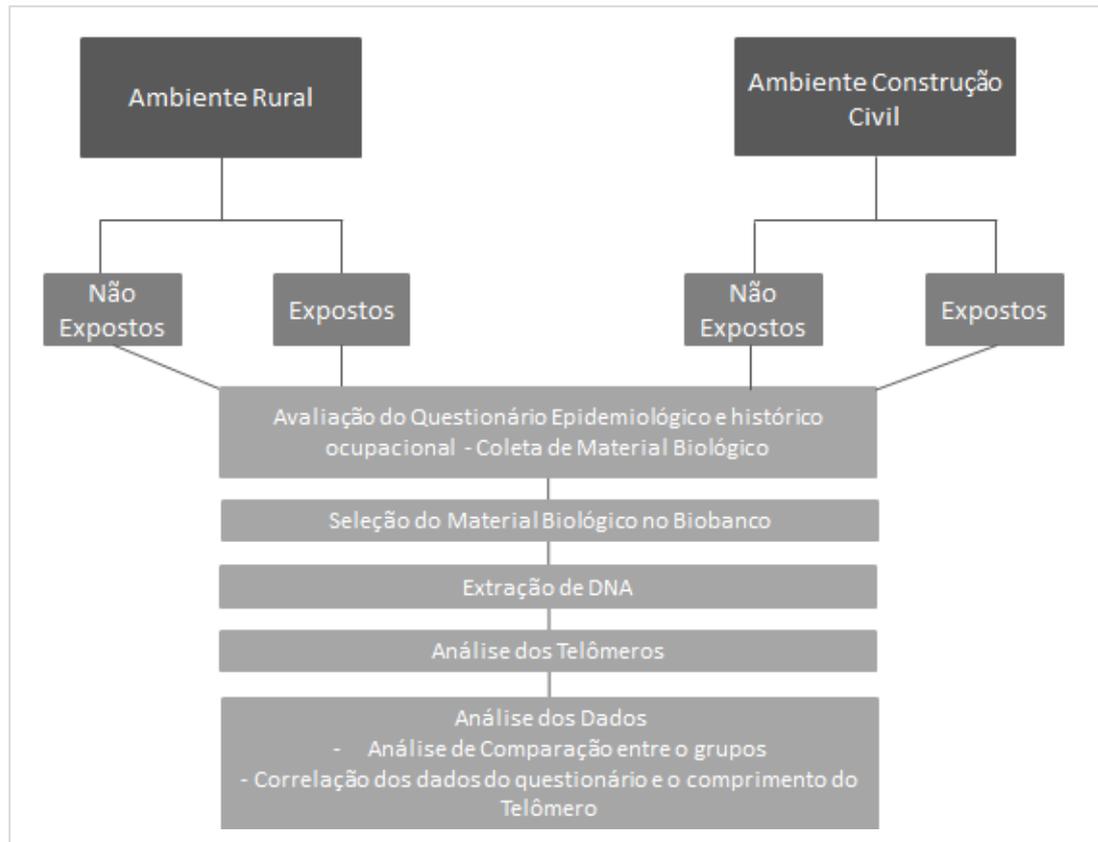


Figura 5 - Fluxograma do projeto de pesquisa.

### 4.2 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional transversal.

### 4.3 Local e População do Estudo

O estudo foi realizado no Hospital de Câncer de Barretos (HCB) no Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular (CPOM).

O grupo de indivíduos expostos à agrotóxicos foi recrutado nos municípios que compõem a Departamento Regional de Saúde-Barretos no contexto da agricultura familiar. Os indivíduos não expostos à agrotóxicos são trabalhadores urbanos da cidade de Barretos que não possuem contato direto com agrotóxicos ou com outro possível agente carcinogênico. Os participantes da pesquisa foram pareados de acordo com sexo e idade.

Para os trabalhadores expostos ao ambiente da construção civil foram recrutados funcionários deste setor do HCB e trabalhadores não expostos a este ambiente, foram do setor administrativo desta mesma instituição. Os participantes da pesquisa foram pareados de acordo com a idade. Além disso, foram selecionados somente indivíduos não fumantes e ex-fumantes (com pelo menos um ano de término do hábito). Dessa forma não foram selecionados indivíduos fumantes para os grupos de avaliação do ambiente da construção civil. Essa exclusão ocorreu devido o hábito de fumar ser um fator confundidor para avaliações de metilação do DNA, que foram realizadas previamente nestes grupos. As análises de comprimento telomérico foram realizadas neste estudo em continuidade ao projeto intitulado “Avaliação de danos genotóxicos em trabalhadores da construção civil”.

#### **4.4 Cálculo do tamanho amostral**

Para o cálculo amostral dos grupos dos trabalhadores rurais e os respectivos controles foi realizado o teste de comparação de médias através da relação entre grupos expostos e não expostos a pesticidas considerando o trabalho Kahl *et al.*, 2016<sup>39</sup>. O programa utilizado para realização do tamanho amostral foi GPower 3.0.10, levando-se em conta o poder de teste 0,8 e uma significância de 0.05. Sendo assim, foi encontrado um número de 100 trabalhadores rurais e 100 indivíduos do grupo controle considerado ideal para avaliação do comprimento telomérico nesta população.

Os participantes da pesquisa foram os trabalhadores do sexo masculino do setor da construção civil do Hospital de Câncer de Barretos (grupo exposto) e trabalhadores do setor administrativo desta mesma instituição (grupo não exposto) pareados por idade. O tamanho amostral foi calculado para homens não fumantes com nível de 5% de significância e 10% de precisão. O número do cálculo amostral foi calculado pelo NEB (Núcleo de Epidemiologia e Bioestatística) do HCB, considerando os critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo.

#### **4.5 Critérios de inclusão**

Para o grupo de indivíduos expostos e não expostos aos agrotóxicos todos os envolvidos residiam na mesma área do estudo por pelo menos 1 ano. Foram considerados para os grupos indivíduos com idade superior a 21 anos e abaixo dos 70 anos de idade.

Para o grupo de indivíduos expostos foram incluídos no estudo trabalhadores rurais preferencialmente com exposição aos agrotóxicos por pelo menos 5 anos. Além disso, para o grupo de indivíduos não expostos foram selecionados participantes sem histórico de contato com os agrotóxicos ou com outros agentes considerados carcinogênicos.

Para o grupo de indivíduos da construção civil foram incluídos homens com mais de 18 anos, não fumantes, trabalhadores da construção civil do HCB e também ex-fumantes com pelo menos um ano de término do hábito.

#### **4.6 Critérios de exclusão**

Para os grupos expostos e não expostos deste estudo não foram selecionados usuários de drogas, trabalhadores com presença de doenças infecciosas ou doenças crônicas (como as doenças autoimunes), expostos a outros agentes, como raios X e xilol.

#### **4.7 Questionário Epidemiológico e de Histórico Ocupacional**

Para os grupos de expostos e não expostos a agrotóxicos, os participantes da pesquisa responderam a um questionário referente às características sociodemográficas, rotina ocupacional e saúde geral (Apêndice I) Todos os entrevistadores foram treinados para a aplicação do questionário. O questionário utilizado nas entrevistas foi adaptado em parte de Boffeta *et al.* 1999<sup>50</sup> e Sartor, 2007<sup>51</sup> e também de *Agricultural Health Study*<sup>52</sup>.

Para os trabalhadores expostos ao ambiente da construção civil e não expostos, foi utilizado um questionário contendo as características demográficas, histórico ocupacional e uma matriz de exposição a vários agentes presentes no ambiente da construção civil<sup>18</sup> (Apêndice II). O questionário utilizado nas entrevistas também foi adaptado em parte de Boffeta *et al.* 1999<sup>50</sup> e Sartor, 2007<sup>51</sup>.

#### **4.8 Coleta de Material Biológico**

Para a coleta de material biológico foram utilizados 2 tubos de 5mL de amostras biológicas (sangue) para cada indivíduo. Os tubos foram Vacutainer contendo EDTA, que posteriormente foram submetidos a extração do DNA.

O material biológico coletado nos grupos ficou estocado no Biobanco do HCB vinculados aos projetos intitulados “Avaliação de risco e conscientização do câncer ocupacional em trabalhadores rurais na região de Barretos” sob o protocolo CEP: 1108/2016, e “Avaliação de danos genotóxicos em trabalhadores da construção civil” sob o protocolo CEP: 586/2012) até o momento da utilização.

#### **4.9 Análise do Comprimento dos telômeros**

##### **4.9.1 Extração de DNA**

Para extração de DNA foi realizada a seleção das amostras no Biobanco HCB. Após a recuperação das amostras, o DNA foi extraído de forma automatizada pelo equipamento QiaSymphony.

##### **4.9.2 PCR em Tempo Real quantitativo para avaliação do comprimento dos telômeros seguindo o protocolo de O’Callaghan e Fenech, 2011**

Para avaliação do comprimento dos telômeros por PCR em Tempo Real primeiramente foram realizadas duas curvas padrão representativas dos telômeros e do gene constitutivo 36B4. A primeira foi estabelecida pela diluição seriada de quantidades conhecidas de um oligonucleotídeo sintético (Tabela 1) contendo apenas repetições da sequência que mimetiza a encontrada nos telômeros (TEL STD) e que posteriormente foi utilizada para a quantificação do comprimento telomérico. A segunda curva foi estabelecida pela diluição seriada de quantidades conhecidas de um oligonucleotídeo sintético (Tabela 2), contendo a sequência do gene de cópia única, 36B4 padrão (36B4 STD) que foi utilizada para a normalização dos dados, pois sua quantificação é equivalente ao número de genomas diplóides da amostra. Para ambas as curvas foram realizados 6 pontos de diluição no fator 1:10.

**Tabela 1** - Oligonucleotídeos utilizados no ensaio de comprimento absoluto dos telômeros.

	Oligonucleotídeos	Sequências dos oligonucleotídeos	Tamanho da sequência amplificada
Curva Padrão	<i>Telomere standard</i>	(TTAGGG) <sup>14</sup>	84bp
	36B4 <i>standard</i>	CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCCGTCTCCACAGACAAGGC CAGGACTCGTTTGTACCCGTTGATGATAGAATGGG	75bp
Primers de PCR	teloF	CGGTTTGGTTGGGTTTGGGTTTGGG TTTGGGTT	76bp
	teloR	GGCTTGCCCTACCCTTACCCTTACCC TTACCCTTACCCT	76bp
	36B4F	CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC	75bp
	36B4R	CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA	75bp

As reações de PCR foram realizadas utilizando Master Mix 1X (PowerUp SRBR Green – Thermo Fisher Scientific), *Primer forward* 0,02  $\mu\text{M}$ , *Primer reverse* 0,02  $\mu\text{M}$  (conforme detalhados na Tabela 2), 20ng das amostras e água estéril ultra-pura para completar um volume final de 20  $\mu\text{l}$ . As reações foram realizadas de acordo com os seguintes parâmetros: 95°C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 60 segundos, logo após foi realizada uma curva de dissociação utilizando as condições padrões. As reações e análises foram conduzidas em aparelho termociclador *QuantStudio6* (ThermoFisher Scientific). Todas as amostras foram testadas em triplicatas. Como controle positivo, foi utilizada a linhagem celular leucêmica T 1301. Esta linhagem é tetraploide e possui um comprimento telomérico amplificado e estável.

#### 4.9.2.1 Cálculo das quantificações do comprimento telomérico absoluto

No cálculo do comprimento do telomero pelo método de O'Callaghan e Fenech, 2011, a quantificação dá-se de forma absoluta, devido a utilização na curva padrão de um oligonucleotídeo sintético contendo o tamanho completo do telomero. Dessa forma, as quantificações realizadas por qPCR originam valores de comprimento telomérico absoluto (aTL). Para o cálculo do aTL, inicialmente considerou-se o peso molecular (P.M.) dos oligonucleotídeos (TEL= 26667,2; 36B4= 23268,1). Na sequência foi calculado o peso de uma molécula através da fórmula P.M./constante de Avogadro. Após o cálculo foi estabelecido o ponto mais concentrado do TEL STD o qual possui 60pg do oligonucleotídeo sintético. Assim foi possível calcular que esse ponto possui o equivalente a  $1,36 \times 10^9$  moléculas do oligonucleotídeo sintético e que, considerando que o comprimento do oligonucleotídeo

sintético é de 84 pares de bases, podemos concluir que este ponto apresenta  $1,18 \times 10^8$  kb de sequência telomérica. Por outro lado, foi calculado para o 36B4 STD, o ponto mais concentrado que possui 20pg do oligonucleotídeo sintético. Com isso, este ponto possui o equivalente a  $5,26 \times 10^9$  moléculas do oligo sintético, sendo equivalente a  $2,63 \times 10^9$  cópias de genomas diplóides. Com estes cálculos, foram obtidos os valores de quantidade telomérica e número de cópias de genomas para cada amostra que foram utilizados para calcular a quantidade telomérica por genoma diplóide (aTL).

#### **4.10 Quantificação dos metais nos trabalhadores da construção civil e do setor administrativo.**

A caracterização dos metais foi realizada anteriormente nestes grupos conforme descrito por Silva et al., 2019<sup>39</sup> a determinação dos metais em amostras de sangue foi realizada com um espectrômetro de massa de plasma indutivamente acoplado equipado com uma célula de reação (ICP-MS ELAN DRCII, PerkinElmer, SCIEX, Norwalk, CT, EUA) operando com argônio de alta pureza (99,9%, Praxair, Pinhais, Brasil) e amônio como gás de reação (99,9%, Praxair, Pinhais, Brasil). As análises foram realizadas no laboratório do Prof. Dr. Fernando Barbosa Júnior localizado na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo). Os limites de quantificação do método (10 s) usados para As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, Tl, V e Zn foram 0,04, 0,01, 0,03, 0,02, 0,8, 0,03, 0,01, 0,8, 0,1, 0,02 e  $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

#### **4.11 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada utilizando o *software SPSS* versão 23.0. Inicialmente, foram verificadas as características da amostra através de média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo (para as variáveis numéricas) e tabelas contendo os valores absolutos e relativos das variáveis categóricas. A normalidade das variáveis foi avaliada através do teste *Shapiro-Wilk* e *Kolmogorov-Smirnov*. Posteriormente, a comparação entre os grupos (expostos x não expostos) foi realizada através do teste de *Mann-Whitney*. A relação do comprimento telomérico com as variáveis de exposição e características sociodemográficas, exposição a agrotóxicos ou quantificação dos metais foram analisadas através dos testes de

correlação de *Spearman* e regressão linear múltipla. Para as análises de regressão foi utilizado o método de *Backward* para a remoção de variáveis que apresentam maior valor de p, ou seja, que não apresentaram significância estatística no modelo. Para todas as análises foi considerado o nível de significância de  $p < 0,05$ .

#### **4.12 Questões Éticas**

Para todas as amostras biológicas, bem como dados de questionário utilizados no estudo, os projetos intitulados “Avaliação de risco e conscientização do câncer ocupacional em trabalhadores rurais na região de Barretos” sob o protocolo CEP: 1108/2016, e “Avaliação de danos genotóxicos em trabalhadores da construção civil” sob o protocolo CEP: 586/2012 foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética da Fundação Pio XII para avaliação ética antes do seu início. Após aprovação do Comitê de Ética todos os dados referentes aos participantes da pesquisa são mantidos em sigilo e os nomes não são revelados em qualquer resultado da pesquisa. As avaliações do comprimento dos telômeros foram realizadas no DNA de fonte germinativa dos participantes da pesquisa, mas não revelaram mutações que sejam implicadas em câncer hereditário ou aconselhamento genético.

Neste estudo já foi aplicado o TCLE a todos os participantes, e que também assinaram o TCLE do Biobanco. Foi informado ainda que o participante poderá encerrar sua participação no momento que desejar, sem qualquer prejuízo individual. Todos os entrevistadores foram treinados para a aplicação do questionário.

##### **4.12.1 Riscos**

O projeto é de baixo risco para os participantes de pesquisa, uma vez que não causa constrangimento na aplicação do questionário na população de estudo. O que pode ocorrer é a quebra acidental do sigilo das informações dos participantes. A equipe do projeto tomará todas as precauções para que isso não ocorra.

##### **4.12.2 Benefícios**

Não há benefício individual direto ou compensação financeira aos participantes do estudo. Esse estudo poderá auxiliar na caracterização das populações expostas aos

agrotóxicos e que podem influenciar no desenvolvimento de câncer. Assim, será possível, a elaboração de políticas de saúde que propiciem a melhoria das condições de trabalho e qualidade de vida da população.

#### **4.13 Apoiadores e Parceiros**

Agradecimentos ao Ministério Público do Trabalho (MPT), a Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), ao Ministério da Saúde (MS), ao Centro de Referência em Saúde do Trabalhador (CEREST), a Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), e ao Hospital de Câncer de Barretos.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Otimização e Implementação da metodologia

Para a implementação da metodologia do comprimento absoluto dos telômeros, primeiramente foi preciso definir os pontos iniciais das curvas padrão do TEL (telômero sintético) e do 36B4 (gene de cópia única). Para tanto, foram realizados diversos testes tendo o protocolo de O'Callaghan e Fenech, 2011<sup>37</sup> como referência. Os ensaios realizados foram referentes à quantidade de oligonucleotídeos no primeiro ponto (como descrito no item 4.8.2.1), a quantidade de pontos na curva padrão e até mesmo a escolha do SYBR Green adequado. Em relação ao intercalante de DNA foram testadas algumas marcas como, o Master Mix Power SYBR Green da Thermo Fisher Scientific, SYBR Green Master Mix da Promega e o Master Mix PowerUp SYBR Green da Thermo Fisher Scientific. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se o Master Mix PowerUp SYBR Green da Thermo Fisher Scientific, dessa forma, todas as análises subsequentes de implementação, otimização e avaliação dos grupos utilizou-se este Master Mix. Posteriormente definiu-se o primeiro ponto e a diluição da curva em 60pg e 1:10, respectivamente, para o TEL STD. Em relação ao gene de cópia única, o 36B4 padrão, o primeiro ponto da curva foi definido em 20pg e a diluição de 1:10. A Figura 6 representa as reações de amplificação de PCR em tempo real da curva padrão do telômero e de indivíduos expostos e não expostos a agrotóxicos. Na Figura 7, foi representado o gráfico da curva padrão do telômero, demonstrando a linearidade entre as triplicatas de cada ponto da curva e a distribuição das amostras utilizadas na implementação. A Figura 8 representa as reações de amplificação de PCR em tempo real da curva padrão do 36B4 e de indivíduos expostos e não expostos a agrotóxicos. Na Figura 9, foi representado o gráfico da curva padrão do gene 36B4, demonstrando a linearidade entre as triplicatas de cada ponto da curva e a distribuição das amostras utilizadas na implementação.

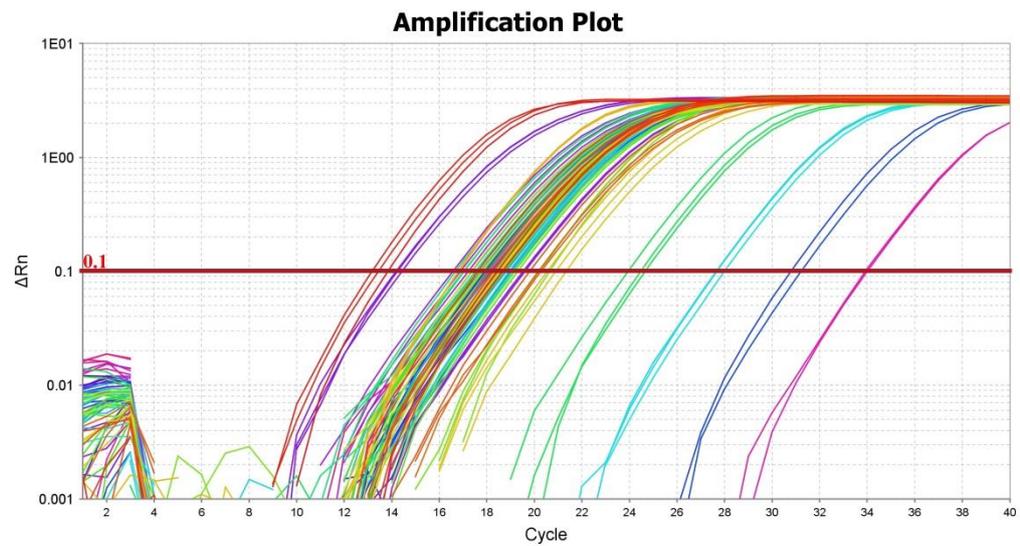


Figura 6 – Gráfico representativo da amplificação do TEL STD. As diferentes cores representam os pontos da curva e amostras analisadas em triplicatas. A linha horizontal vermelha representa o *threshold* com  $\Delta Rn = 0,1$ . Esta Figura foi retirada como saída do *software* QuantStudio Real Time.

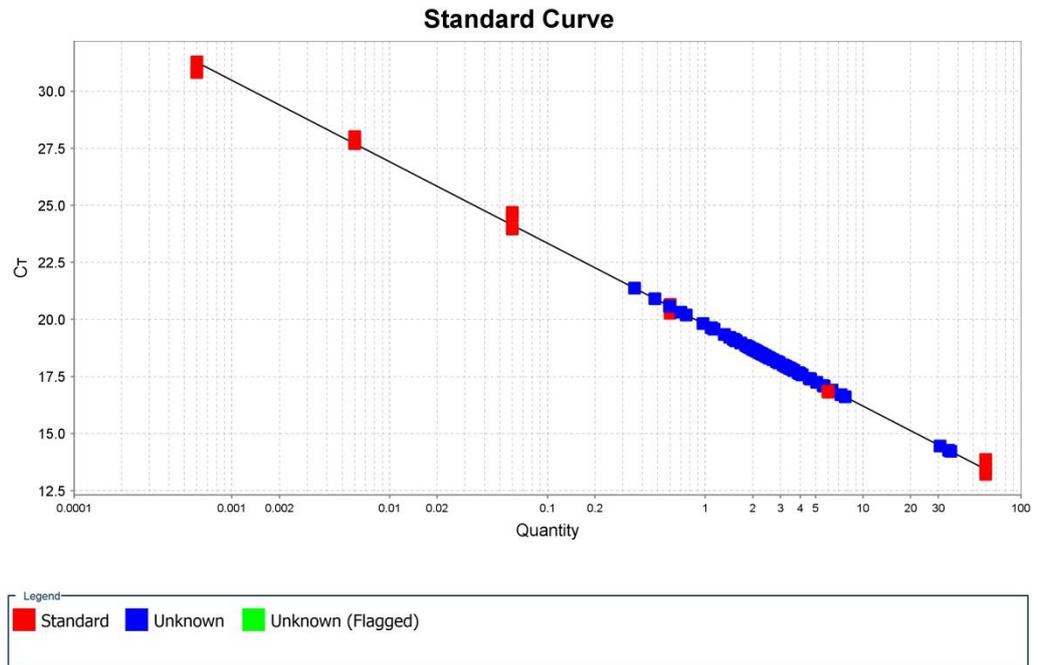


Figura 7 - Gráfico representativo da curva padrão do TEL STD. Os pontos em vermelho representam a curva padrão, do TEL STD. Os pontos azuis representam as amostras de indivíduos expostos e não expostos. Todos os pontos são representações das triplicatas do experimento. Foram obtidos um fator de correlação de  $R^2 = 0,998$  e uma eficiência de  $Eff\% = 90,606$ .

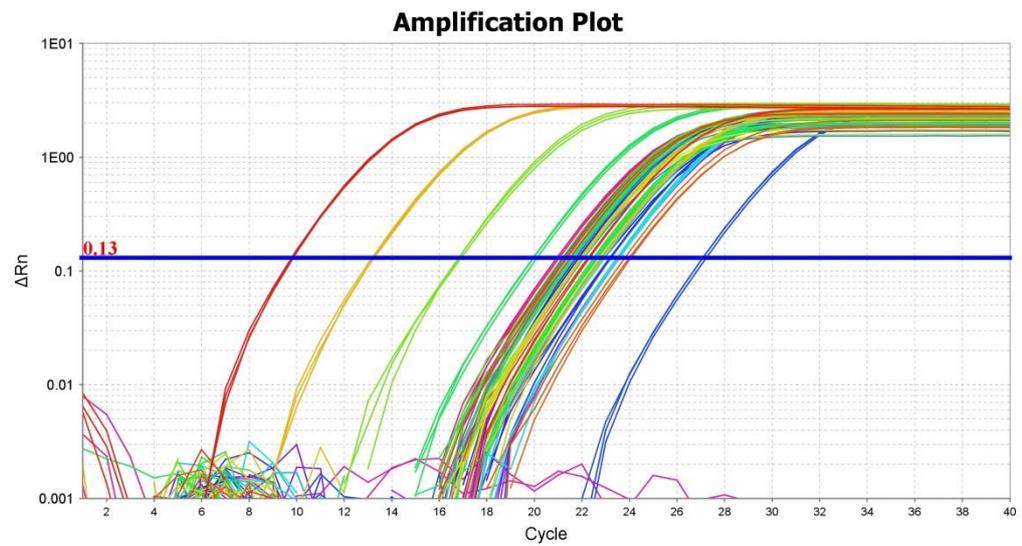


Figura 8 - Gráfico representativo da amplificação do 36B4 STD. As diferentes cores representam os pontos da curva e amostras analisadas em triplicatas. A linha horizontal vermelha representa o *threshold* com  $\Delta Rn = 0,13$ . Esta Figura foi retirada como saída do *software* QuantStudio Real Time.

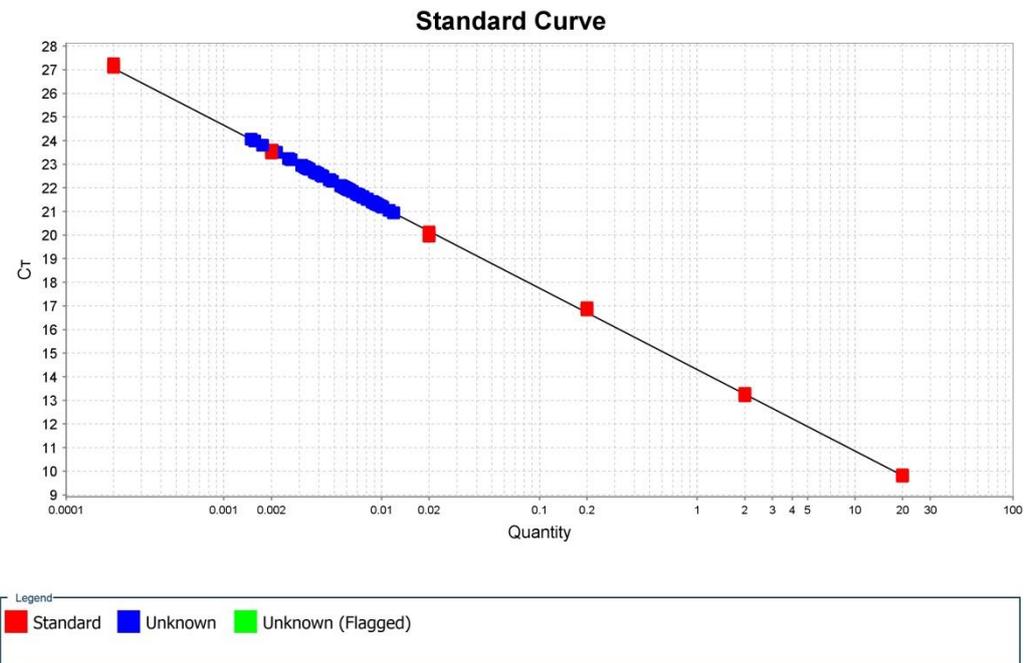


Figura 9 - Gráfico representativo da curva padrão do 36B4 STD. Os pontos em vermelho representam a curva padrão, do 36B4 STD. Os pontos azuis representam as amostras de indivíduos expostos e não expostos. Todos os pontos são representações das triplicatas do experimento. Foram obtidos um fator de correlação de  $R^2 = 1$  e uma eficiência de  $Eff\% = 95,002$ .

## **5.2 Caracterização da população exposta e não exposta aos agrotóxicos**

A Tabela 2 traz os dados sociodemográficos dos grupos exposto e não exposto a agrotóxicos. O grupo exposto e o grupo não exposto aos agrotóxicos foram compostos por 81 indivíduos cada, a idade média foi de 47,32 e 49,16 anos, com idades entre 25,4 e 64,8 anos e 25,2 e 65,0 anos, respectivamente. No grupo exposto, o tempo médio de trabalho no campo foi de 30 anos. A maioria dos participantes da pesquisa era do gênero masculino, 80,5% no grupo exposto e 85,2% no grupo não exposto. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao hábito de fumar, consumo de álcool e a origem étnica. Entre os indivíduos expostos, a frequência dos indivíduos que relataram utilizar EPI completo foi de 39,7%, e o uso de máscara foi relatado por 29,6% dos participantes.

**Tabela 2** - Características do grupo exposto e não exposto a agrotóxicos.

Grupo	Não exposto (N=81)		Exposto (N=81)		p-valor
	Média (DP)	Mediana (Min-Máx)	Média (DP)	Mediana (Min-Máx)	
<b>Idade</b>	47,87 (10,66)	49,30 (25,40-64,80)	49,16 (10,06)	49,70 (25,20-65,00)	0,590
<b>Tempo trabalho no campo (anos)</b>	-	-	30 (14)	32 (5-50)	-
<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>Gênero</b>					
Feminino	15	19,5	12	14,8	0,436
Masculino	62	80,5	69	85,2	
<b>Tabagismo<sup>a</sup></b>					
Nunca fumou	56	72,7	47	58,8	0,067
Atual	6	7,8	16	20,0	
Passado	15	19,5	17	21,3	
<b>Etilismo<sup>a</sup></b>					
Não	26	33,8	32	39,5	0,445
Sim	51	66,2	49	60,5	
<b>Etnia</b>					
Branco	49	63,6	58	71,6	0,431
Negro	10	13,0	6	7,4	
Pardo	18	23,4	17	21,0	
<b>EPI</b>					
EPI competol <sup>b</sup>					
Não	-	-	47	60,3	-
Sim	-	-	31	39,7	-
Máscara					
Não	-	-	57	70,4	-
Sim	-	-	24	29,6	-

N = número de participantes

EPI (Equipamento de Proteção Individual),

<sup>a</sup> Análise estatística utilizando o teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis

<sup>b</sup> três participantes não responderam.

Em negrito destaque p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

### 5.3 Caracterização dos principais agrotóxicos utilizados

A Figura 10 apresenta a listagem dos agrotóxicos mais utilizados pelos indivíduos do grupo exposto em suas atividades ocupacionais assim como a classe que o princípio ativo pertence, através do banco de dados do Sistema de Informações sobre Agrotóxicos (Ariadne). Também foi estabelecido o grupo químico, a classificação toxicológica segundo a Agência

Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e carcinogenicidade de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC/OMS). Entre os herbicidas a maior prevalência na população de estudo foi o Glifosato (97,60%), 2,4 D (60,20%) e Atrazina (44,60%); com relação aos inseticidas a Cipermetrina e Deltametrina (47,0%), Malationa (45,8%), Abamectina (75,9%) e entre os Fungicidas Oxicloreto de cobre (56,6%), Sulfato de cobre e Piraclostrobina (44,6).

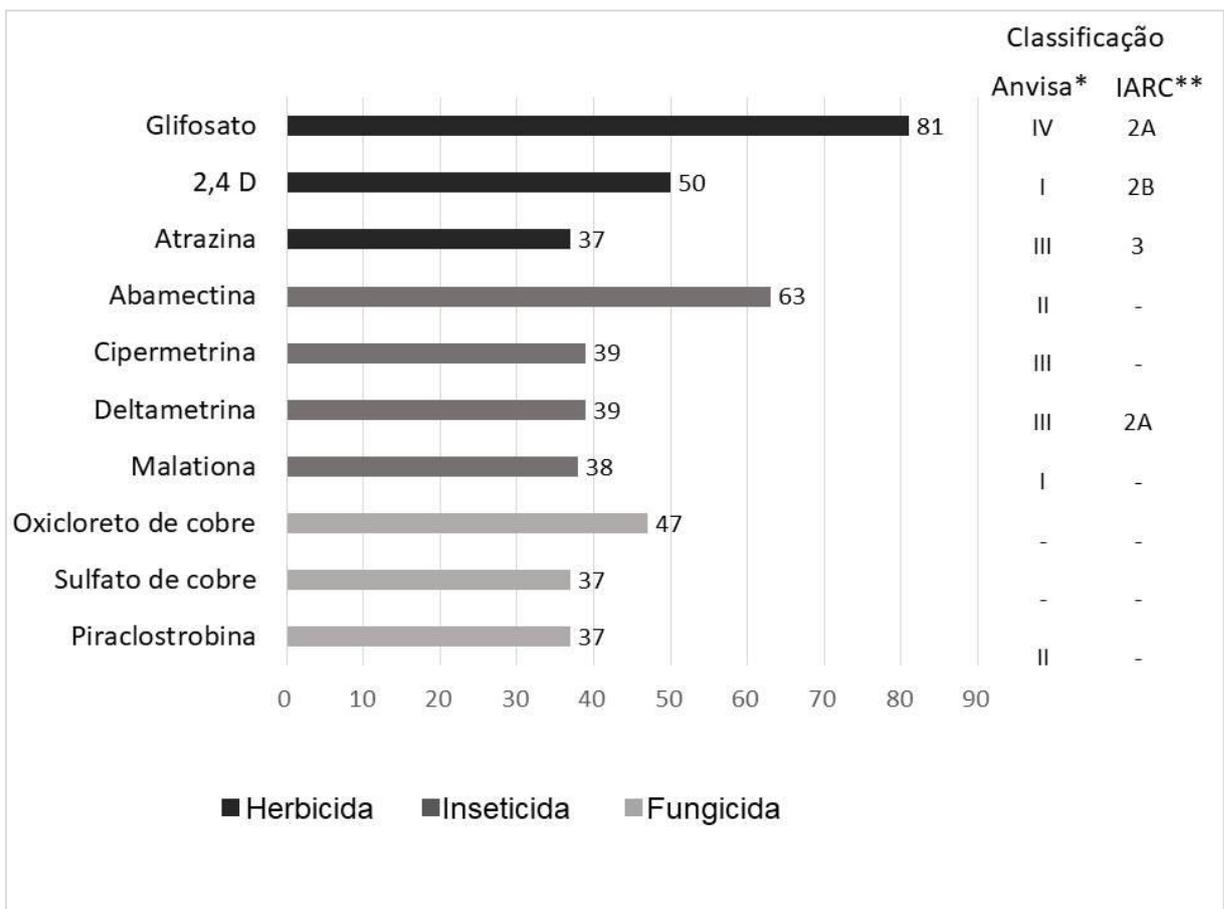


Figura 10 - Agrotóxicos mais utilizados pelos trabalhadores rurais na região de Barretos, SP classificados de acordo com a sua toxicidade e carcinogenicidade. Classificação toxicológica da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) I = extremamente tóxico, II = altamente tóxico, III = mediante tóxico, IV = pouco tóxico. Classificação da carcinogenicidade da Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC) Grupo1 = agente carcinogênico, Grupo2A = provavelmente carcinogênico, Grupo2B = possivelmente carcinogênico, Grupo3 = não classificado como carcinogênico, Grupo4 = não é carcinogênico.

#### 5.4 Avaliação do comprimento telomérico nos grupos expostos e não expostos a agrotóxicos

Após a realização das reações de qPCR, realizou-se uma análise estatística para a comparação do comprimento absoluto do telômero (aTL) entre os grupos exposto e não exposto conforme apresentado na Figura 10. Verificou-se que não ocorreu nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Média de  $50,84 \pm 31,95$  kb/genoma diploide no grupo exposto e Média de  $39,65 \pm 16,67$  kb/genoma diploide no grupo não exposto –  $p=0,153$ ). Apesar dos grupos não apresentarem diferenças significativas, podemos observar que os expostos obtiveram uma maior variabilidade no comprimento telomérico em comparação ao grupo não expostos (Figura 10).

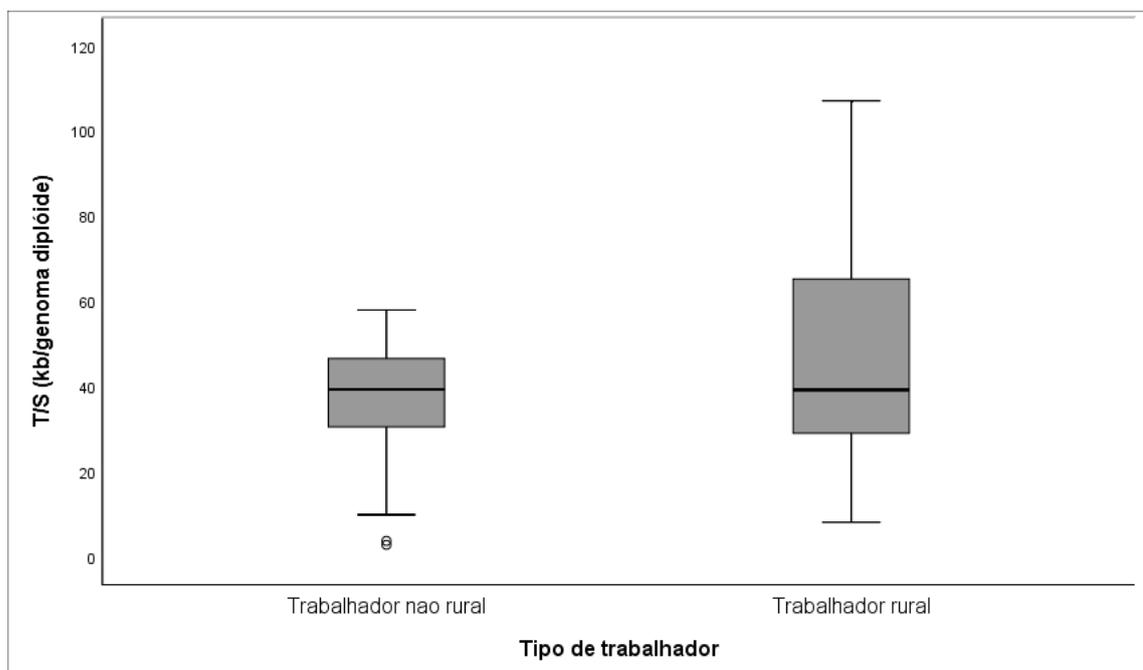


Figura 11 - Gráfico representativo da comparação do comprimento dos telômeros entre os grupos de expostos (N=81) e não expostos (N=81). Foi utilizado o teste de Mann-Whitney, não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos  $p=0,153$ . O gráfico de barras demonstra os dados representando o mínimo, quartil inferior, mediana, quartil superior e máximo.

### 5.4.1 Avaliação do comprimento dos telômeros e as covariáveis sócio-demográficas nos grupos exposto e não exposto a agrotóxicos

Análises estatísticas foram realizadas para verificação das associações do comprimento dos telômeros com algumas variáveis sócio-demográficas no grupo exposto e não exposto. Na Tabela 5, observou-se que as variáveis sexo, hábito de fumar, consumo de álcool e uso de EPI (todos equipamentos ou somente uso da máscara) não levaram a diferenças estatisticamente significantes no comprimento telomérico. Em relação a variável etnia foi verificada uma diferença estatisticamente significativa no comprimento telomérico. Verificou-se que os indivíduos negros apresentaram um maior comprimento dos telômeros ( $93,48 \pm 51,83$  kb/genoma diploide –  $p = 0,015$ ) em relação aos indivíduos dos outros grupos étnicos (Indivíduos brancos média de  $46,22 \pm 28,62$  kb/genoma diploide e pardos média de  $51,53 \pm 24,23$  kb/genoma diploide).

**Tabela 3** - Análise da relação das variáveis sexo, etnia, fumo, bebida, uso de EPI (completo e com máscara) com o comprimento absoluto dos telômeros entre os trabalhadores rurais

		Comprimento absoluto do telômero						p-valor <sup>a</sup>
		N	Média	Desvio padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	
<b>Sexo</b>	Masculino	69	51,58	32,78	41,32	8,02	184,52	0,642
	Feminino	12	46,55	27,53	38,80	17,05	107,05	
<b>Etnia</b>	Branco	58	46,22	28,62	36,33	8,02	180,21	<b>0,015</b>
	Negro	6	93,48	51,83	90,02	41,33	184,53	
	Pardo	17	51,53	24,23	43,94	23,05	92,46	
<b>Fumo</b>	Nunca Fumou	47	48,44	23,92	42,57	14,45	97,70	0,541
	Fumante	16	45,22	27,07	31,80	22,34	107,05	
<b>Bebida</b>	Ex-Fumante	17	59,92	26,16	43,94	8,02	184,53	0,101
	Nunca / ano passado	32	44,47	26,17	35,90	8,02	107,05	
<b>EPI completo</b>	Sim,	49	55,00	34,85	43,93	14,45	184,53	0,740
	Não	47	48,72	31,17	38,26	8,02	184,53	
<b>Máscara</b>	Sim	31	50,45	32,71	39,13	14,44	180,21	0,363
	Não	57	54,18	35,75	41,64	8,02	184,53	
	Sim	24	42,90	18,61	38,80	14,44	92,46	

N = número de participantes

<sup>a</sup> Análise estatística utilizando o teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis

Em negrito destaca p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

A fim de verificar a influência no comprimento telomérico dos indivíduos analisados em relação das variáveis grupo (exposto ou não exposto), número de maços de cigarros consumidos por ano, consumo de bebida alcoólica, idade, sexo, etnia, tempo de trabalho e uso de EPIs, foi realizada uma análise seguindo o modelo de regressão linear múltipla, considerando as variáveis citadas acima. No modelo com todas as variáveis, utilizando o método *backward* foram realizados rounds subsequentes de análises, removendo as variáveis do modelo que apresentaram maior valor p. Desta forma, foram removidas as variáveis, seguindo a ordem: uso de EPIs, etnia, sexo, idade, consumo de bebida alcoólica, tempo de trabalho e grupo. O modelo de regressão final ficou com apenas a variável número de maços de cigarros consumidos por ano. Nas análises com este modelo verificou-se que o aumento do consumo de maço de cigarros, levou uma redução no comprimento telomérico ( $\beta = -0,633$ ,  $p = 0,045$ ).

**Tabela 4** - Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação ao consumo de maço de cigarros.

Variáveis	Coeficiente de Regressão ( $\beta$ )	Intervalo de confiança (95%) para Coeficiente de Regressão		p-valor <sup>a</sup>
		Inferior	Superior	
<b>Quantidade de maços/ano</b>				
Maço de cigarro	-0,633	-1,251	-,014	<b>0,045</b>
<b>Constante</b>	67,725	47,055	88,395	0,001

Variável Dependente: aTL (kb/genoma diplóide)

<sup>a</sup> Análise estatística utilizando o teste de Kruskal-Wallis

Em negrito destaque p-valor estatisticamente significativo ( $p\text{-valor} < 0,05$ )

### 5.5.3 Avaliação do comprimento dos telômeros e a idade nos grupos exposto e não exposto a agrotóxicos

Considerando a idade como uma influência direta no comprimento do telômero, foram realizadas análises de correlação entre o tamanho telomérico e a idade dos indivíduos (exposto e não exposto) pelo método estatístico de Correlação de *Spearman*. Nestas análises não ocorreu uma correlação estatisticamente significativa em ambos os grupos (Tabela 5). Foi realizada uma análise de correlação somente com o grupo exposto (trabalhadores rurais)

entre as variáveis tempo de exposição aos agrotóxicos e o comprimento telomérico, também não se verificou uma correlação estatisticamente significativa entre as variáveis (Tabela 7).

**Tabela 5** - Análise de correlação entre as variáveis idade e tempo de exposição com comprimento dos telômeros.

Variáveis	Coefficiente de correlação	p valor <sup>a</sup>
<b>Idade</b>		
Expostos	-0,094	0,411
Não expostos	0,172	0,125
<b>Tempo de Exposição</b>		
Expostos	0,093	0,419

<sup>a</sup> Correlação de Spearman

Ainda a fim de avaliar o efeito da idade nos grupos expostos e não expostos, realizou-se uma seleção dos indivíduos a partir da mediana da idade do grupo,  $\leq 49$  anos e  $\geq 50$  anos, (Figura 12). Em seguida foi realizada uma análise de regressão linear múltipla, e observou-se que a idade não influencia o comprimento telomérico, enquanto a exposição influenciou ( $p=0,006$ ). Dessa forma podemos salientar que o fator exposição a agrotóxicos pode aumentar o comprimento telomérico ( $\beta=11,21$ ) (Tabela 6).

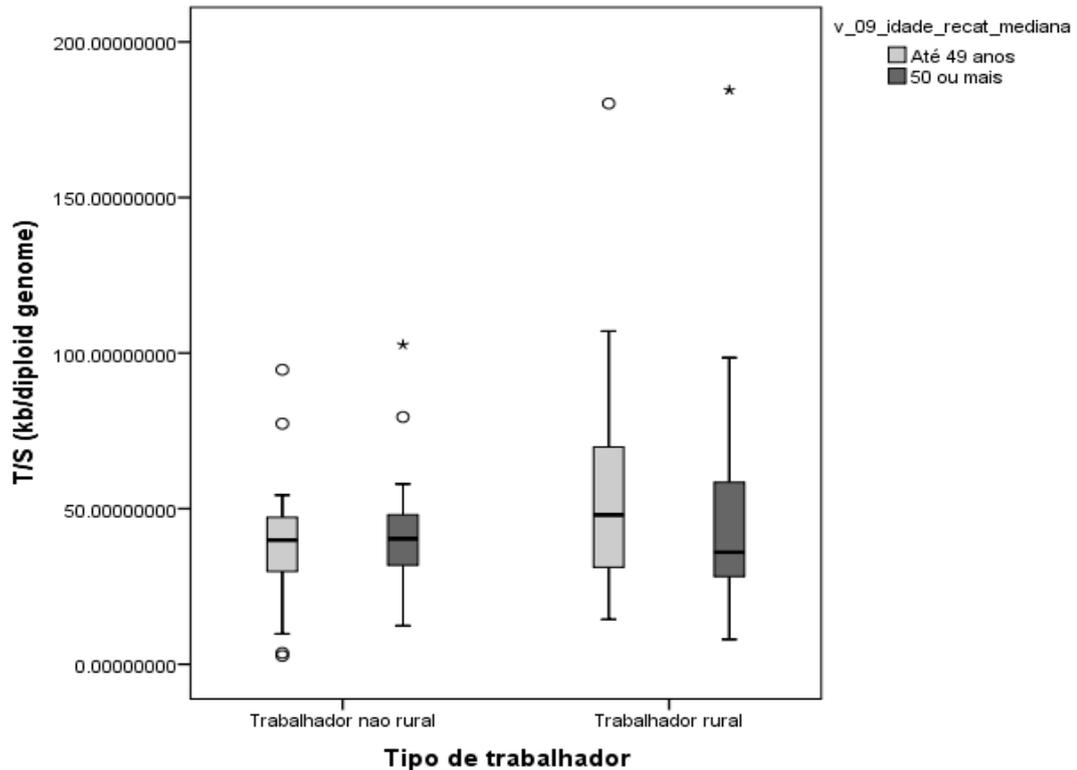


Figura 12 - Gráfico representativo da comparação entre os indivíduos não expostos e expostos estratificados conforme a idade de  $\leq 49$  anos ( $N=40$ ) e  $\geq 50$  anos ( $N= 41$ ). O gráfico de barras demonstra os dados representando o mínimo, quartil inferior, mediana, quartil superior e máximo.

**Tabela 6** - Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação a idade ( $\leq 49$  anos /  $\geq 50$  anos) e exposição.

Variáveis	Coeficiente de Regressão ( $\beta$ )	Intervalo de confiança (95%) para Coeficiente de Regressão		p-valor <sup>a</sup>
		Inferior	Superior	
<b>Tipo de trabalhador</b>				
Não rural	-	-	-	
Rural	11,21	3,28	19,14	<b>0,006</b>
<b>Idade</b>				
$\leq 49$ anos	-	-	-	-
$\geq 50$ anos	-1,9	-9,85	6,02	0,113
<b>Constante</b>	40,60	33,80	47,36	<b>&lt;0,001</b>

<sup>a</sup> Análise estatística utilizando o teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis  
Em negrito destaca p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

#### 5.4.2. Avaliação da exposição à agrotóxicos e comprimento do telômero

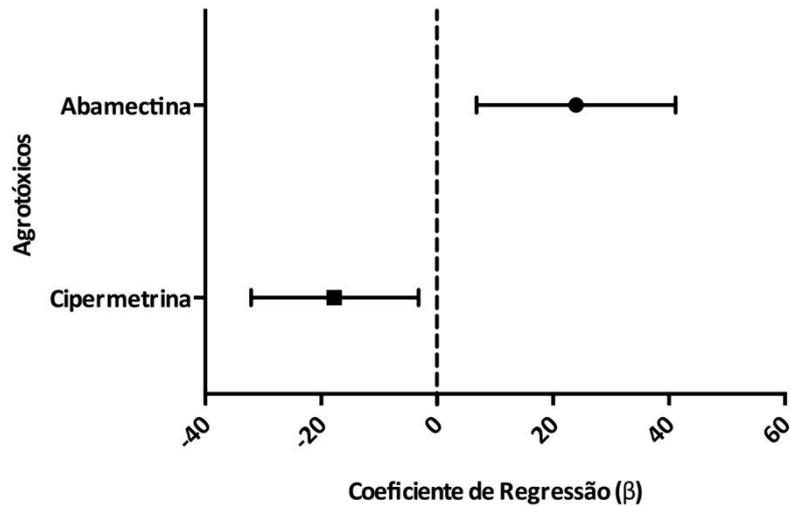
A fim de avaliar a influência da exposição aos agrotóxicos no comprimento do telômero, foi realizada uma análise seguindo o modelo de regressão linear múltipla com agrotóxicos citados na Figura 10, utilizando o método *backward* e realizados rounds subsequentes de análises, removendo as variáveis do modelo que apresentaram maior valor p. O modelo de regressão final ficou com apenas dois tipos de agrotóxicos que influenciam no comprimento telomérico sendo eles Abamectina e Cipermetrina (Tabela 7 e Figura 13). Nas análises com este modelo verificou-se que a utilização de Abamectina levou um aumento no comprimento telomérico ( $\beta = 23,990$ ,  $p = 0,007$ ) enquanto a Cipermetrina tem um efeito contrário, ou seja, leva a uma redução do comprimento do telômero ( $\beta = -18,039$ ,  $p = 0,018$ ).

**Tabela 7** – Modelo de regressão linear múltipla para o comprimento do telômero em relação a exposição aos agrotóxicos (Método Backward).

Variáveis	Coeficiente de Regressão ( $\beta$ )	Intervalo de confiança (95%) para Coeficiente de Regressão		p-valor <sup>a</sup>
		Inferior	Superior	
<b>Abamectina</b>				
Não relata uso	-	-	-	-
Relata o uso	23,99	6,82	41,16	<b>0,007</b>
<b>Cipermitrina</b>				
Não relata uso	-	-	-	-
Relata o uso	-18,04	-32,90	-3,18	<b>0,018</b>
<b>Constante</b>	41,01	27,35	34,68	<b>&lt;0,001</b>

<sup>a</sup> Regressão Linear Múltipla

Em negrito destaca-se p-valor estatisticamente significativo ( $p$ -valor < 0,05)



**Figura 13** – Gráfico Forest Plot com os coeficientes de regressão (intervalo de confiança de 95%) para o comprimento do telômero em relação a exposição aos agrotóxicos (Regressão Linear Múltipla).

### 5.6 Características sócio-demográficas dos grupos expostos e não expostos da construção civil

A tabela 8 demonstra os dados sócio-demográficos dos grupos exposto e não exposto ao ambiente da construção civil. Os grupos exposto e não exposto ao ambiente da construção civil, foram compostos por 59 e 49 indivíduos, respectivamente. As idades médias dos grupos foram no grupo exposto de 39 anos e no grupo não exposto de 32 anos, sem diferença estatisticamente significativa. O grupo exposto apresentou em média 10 anos de trabalho no setor da construção civil. Entre os participantes, foi verificado que a frequência de fumantes passivos é maior no grupo exposto (63,7%) em relação ao grupo não exposto (31,1%) (Tabela 8). Foi observada diferença significativa quanto ao hábito de beber, entre os indivíduos do grupo exposto em comparação ao não exposto.

**Tabela 8** – Características do grupo exposto e não exposto no ambiente da construção civil

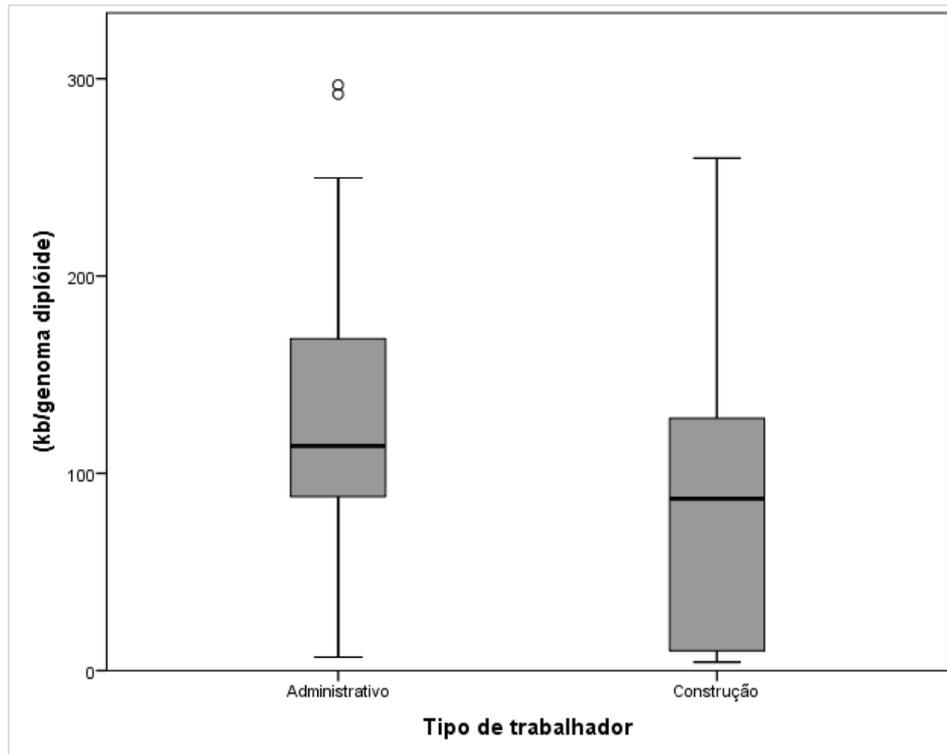
Grupo	Construção civil (N=59)		Setor administrativo (N=49)		p-valor <sup>a</sup>
	Média (DP)	Mediana (Min-Máx)	Média (DP)	Mediana (Min-Máx)	
Idade	39 (13)		32 (10)		0,600
Tempo trabalho no campo (anos)	10		-	-	-
<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	
<b>Fumante passivo</b>					
Não	22	37,3	31	68,9*	<b>0,001</b>
Sim	37	62,7	14	31,1*	
<b>Etilismo</b>					
Não/passado	23	39,0	8	16,7	<b>0,01</b>
Sim	36	61,0	40	83,3	
<b>Etnia</b>					
Branco	36	63,2	28	73,7	0,28
Negro	8	14,0	2	5,3	
Pardo	13	22,8	7	18,4	
Oriental	0	0	1	2,6	

N - Número de participantes \*

<sup>a</sup>Análise estatística utilizando o teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis  
Em negrito destaque p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

### 5.7 Avaliação do comprimento telomérico nos grupos expostos e não expostos ao ambiente da construção civil

Após a realização das reações de qPCR, realizou-se uma análise estatística para a comparação do comprimento absoluto do telômero (aTL) entre os grupos exposto e não exposto conforme apresentado na Figura 14. Verificou-se que ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Média de 85,00 ± 64,75 kb/genoma diploide no grupo exposto e Média de 123,31 ± 75,16 kb/genoma diploide no grupo não exposto – p=0,009) (Figura 14).



**Figura 14** - Gráfico representativo da comparação do comprimento dos telômeros entre os grupos de expostos (49) e não expostos (59). Foi utilizado o teste de Mann-Whitney e observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos  $p=0,009$ . O gráfico de barras demonstra os dados representando o mínimo, quartil inferior, mediana, quartil superior e máximo.

### 5.7.1 Avaliação do comprimento dos telômeros e as covariáveis sociodemográficas no grupo exposto ao ambiente da construção civil

Análises estatísticas foram realizadas para verificação das associações do comprimento dos telômeros com algumas variáveis sociodemográficas no grupo exposto. Na Tabela 9, observou-se que a comparação entre as variáveis etnia, hábito de fumar, consumo de álcool e uso de EPI (completo e somente uso da máscara) com o comprimento telomérico, não ocorreram diferenças estatisticamente significantes.

**Tabela 9** – Análise da relação das variáveis etnia, fumo, bebida, uso de EPI (completo e com máscara) com o comprimento absoluto dos telômeros.

		Comprimento absoluto do telômero						p-valor <sup>a</sup>
		N	Média	Desvio padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	
<b>Etnia</b>	Branco	30	92,93	73,17	90,00	6,30	259,76	0,389
	Negro	8	105,00	66,50	80,08	59,50	204,29	
	Pardo	11	53,73	54,60	38,93	4,40	153,93	
<b>Fumo</b>	Passivo	15	97,76	72,32	110,76	4,37	206,00	0,427
	Ex-Fumante	19	70,56	57,40	67,40	6,64	204,29	
<b>Bebida</b>	Nunca / no passado	33	84,12	56,40	87,87	7,38	204,29	0,763
	Sim	42	86,68	76,50	70,57	4,37	259,76	
<b>EPI</b>	Não	47	99,30	31,17	38,26	8,02	184,53	0,740
	Sim	31	50,45	32,71	39,13	14,44	180,21	
<b>Máscara</b>	Não	57	54,18	35,75	41,64	8,02	184,53	0,363
	Sim	24	42,90	18,61	38,80	14,44	92,46	

<sup>a</sup> Análise estatística utilizando o teste de Mann-Whitney ou teste de Kruskal-Wallis

### 5.7.2 Avaliação do comprimento dos telômeros e as covariáveis sócio-demográficas nos grupos exposto e não exposto ao ambiente da construção civil

A fim de verificar a influência no comprimento telomérico dos indivíduos analisados em relação ao grupo (exposto ou não exposto), idade, etnia, foi realizada uma análise seguindo o modelo de regressão linear múltipla, considerando as variáveis citadas acima. No modelo com todas as variáveis, utilizando o método *backward* foram realizados rounds subsequentes de análises, removendo as variáveis do modelo que apresentaram maior valor p. Desta forma, foram removidas as variáveis, seguindo a ordem: idade, etnia e grupo exposto e não exposto. O modelo de regressão final ficou com apenas a variável exposição. Nas análises com este modelo, verificou-se que o grupo exposto apresentou uma redução no comprimento telomérico ( $\beta = -38,313$ ,  $p = 0,013$ ).

**Tabela 10** – Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação a exposição ao ambiente da construção civil.

Variáveis	Coeficiente de Regressão ( $\beta$ )	Intervalo de confiança (95%) para Coeficiente de Regressão		p-valor
		Inferior	Superior	
<b>Exposição</b>				
Não Exposto	-	-	-	-
Exposto	-38,31	-68,20	-8,43	<b>0,013</b>
<b>Constante</b>	161,62	114,21	209,04	<b>&lt;0,001</b>

Variável Dependente: aTL (kb/genoma diplóide)

Em negrito destaque p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

### 5.7.3 Avaliação do comprimento dos telômeros e a idade nos grupos exposto e não exposto ao ambiente da construção civil

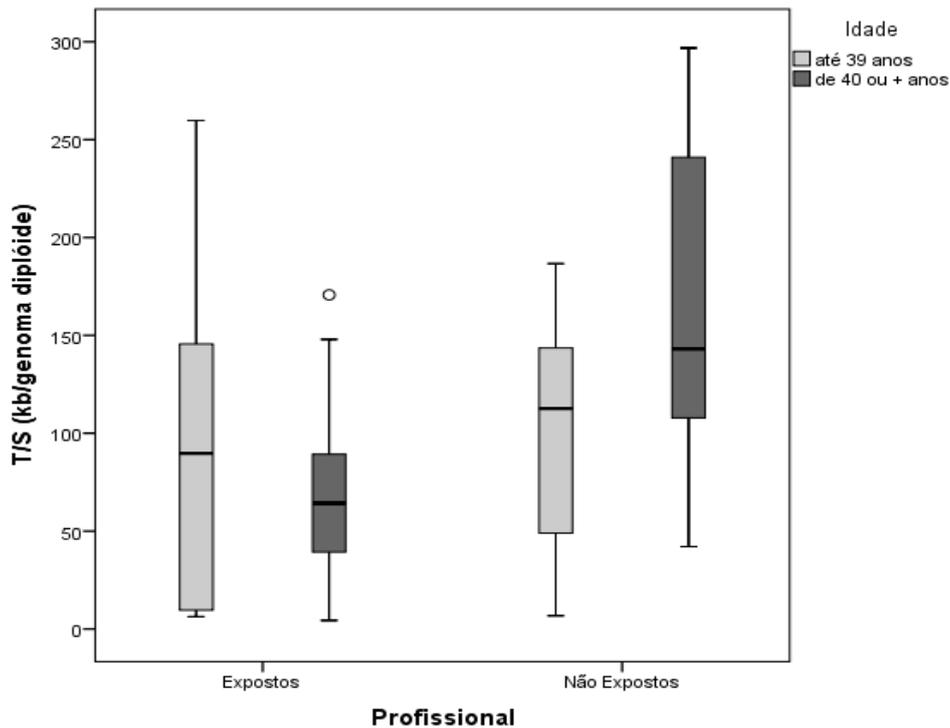
Considerando a idade como uma influência direta no comprimento do telômero, foram realizadas análises de correlação entre o tamanho telomérico e a idade dos indivíduos (exposto e não exposto) pelo método estatístico de Correlação de *Spearman*. Nestas análises não ocorreu uma correlação estatisticamente significativa em ambos os grupos (Tabela 11). Foi realizada uma análise de correlação somente com o grupo exposto (construção civil) entre as variáveis tempo de exposição e o comprimento telomérico, também não se verificou uma correlação estatisticamente significante entre as variáveis.

**Tabela 11** - Análise de correlação entre as variáveis idade e tempo de exposição com comprimento dos telômeros.

Variáveis	Coeficiente de correlação	p valor <sup>a</sup>
Idade		
Expostos	0,138	0,372
Não expostos	0,243	0,117
Tempo de Exposição		
Expostos	0,010	0,951

<sup>a</sup>Correlação de *Spearman*.

Ainda a fim de avaliar o efeito da idade nos grupos expostos e não expostos, realizou-se uma seleção dos indivíduos a partir da mediana da idade do grupo,  $\leq 39$  anos e  $\geq 40$  anos (Figura 15). Dessa forma, realizou-se uma comparação entre os indivíduos expostos e não expostos de acordo com a idade  $\leq 39$  anos e  $\geq 40$  anos. Foi observado uma diferença estatisticamente significativa ( $p=0,002$ ) na comparação entre os indivíduos expostos e não expostos com mais de 40 anos (Figura 15). Em seguida foi realizada uma análise de regressão linear múltipla e observou-se que a idade não influencia o comprimento telomérico, enquanto a exposição influenciou ( $p= 0,014$ ) (Tabela 14). Dessa forma podemos salientar que o fator exposição ao ambiente da construção civil pode reduzir o comprimento telomérico ( $\beta=-37,641$ ).



**Figura 15** - Gráfico representativo da comparação entre os indivíduos não expostos e expostos da construção civil estratificados conforme a idade de até 39 anos e mais de 40 anos. O grupo exposto com idade até 39 foi composto por 29 indivíduos enquanto o grupo exposto com mais de 40 anos foi composto por 15 indivíduos. O grupo não exposto com idade até 39 foi composto por 27 indivíduos enquanto o grupo exposto com mais de 40 anos foi composto por 16 indivíduos.

**Tabela 12** – Modelo de Regressão Linear Múltipla para o comprimento dos telômeros em relação a idade ( $\leq 39$  anos e  $\geq 40$  anos) e exposição.

Variáveis	Coeficiente de Regressão ( $\beta$ )	Intervalo de confiança (95%) para Coeficiente de Regressão		p-valor
		Inferior	Superior	
		<b>Tipo de trabalhador</b>		
Administrativo	-	-	-	
Construção Civil	-37,4	-67,39	-7,90	<b>0,014</b>
<b>Idade</b>				
$\leq 39$ anos	-	-	-	-
$\geq 40$ anos	21,58	-9,47	52,63	0,171
<b>Constante</b>	159,92	104,12	201,72	<b>&lt;0,001</b>

Variável Dependente: aTL (kb/genoma diplóide)

Em negrito destaque p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

### 5.3. Quantificação dos metais nas amostras dos trabalhadores da construção civil e do setor administrativo.

Na tabela 13, observa-se a relação dos metais analisados em cada grupo de trabalhadores, construção civil e administrativo, observando que apenas o cádmio não demonstrou diferença significativa ao se comparar a presença ou não nos grupos.

**Tabela 13** - Metais analisados nos grupos da construção civil e do setor administrativo.

Metal	Grupos		p-valor <sup>a</sup>
	Administrativo (48)	Construção (53)	
Cobre	1525,45 $\pm$ 252,02	1264,22 $\pm$ 290,15	<b>&lt;0,001</b>
Zinco	10572,92 $\pm$ 2496,73	7807,557 $\pm$ 1996,81	<b>&lt;0,001</b>
Cromo	0,495 $\pm$ 1,362	0,015 $\pm$ 0,436	<b>&lt;0,001</b>
Vanádio	0,259 $\pm$ 0,204	0,139 $\pm$ 0,097	<b>0,002</b>
Arsênio	10,80 $\pm$ 11,65	3,601 $\pm$ 1,166	<b>&lt;0,001</b>
Cádmio	29,65 $\pm$ 24,42	30,704 $\pm$ 15,615	0,259
Selênio	0,10 $\pm$ 0,6	0,20 $\pm$ 0,20	<b>&lt;0,001</b>
Manganês	90,97 $\pm$ 26,84	62,96 $\pm$ 18,59	<b>&lt;0,001</b>
Cobalto	2,36 $\pm$ 3,71	-2,70 $\pm$ 4,24	<b>&lt;0,001</b>
Talio	0,176 $\pm$ 0,328	0,009 $\pm$ 0,245	<b>&lt;0,001</b>

Em negrito destaque p-valor estatisticamente significativo (p-valor < 0,05)

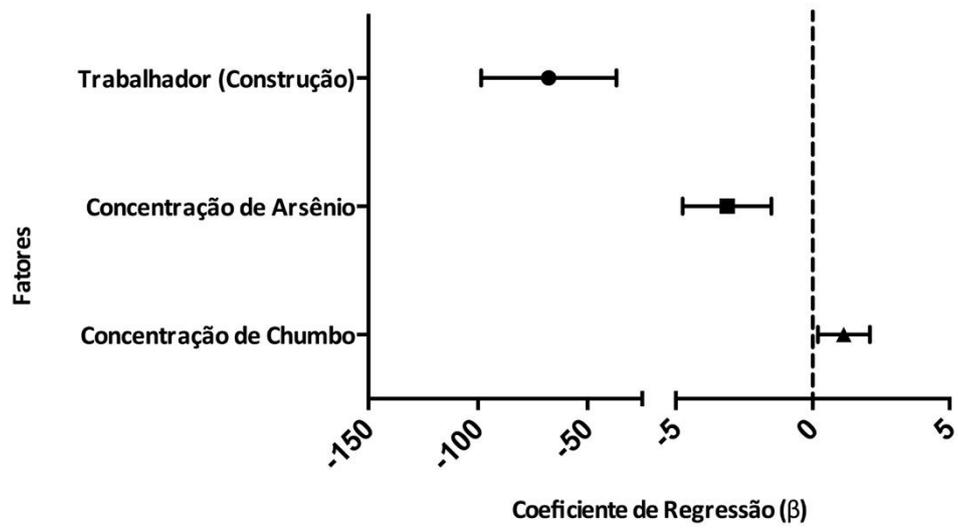
A fim de avaliar a influência da exposição a metais no ambiente da construção civil no comprimento do telômero, foi realizada uma análise seguindo o modelo de regressão linear múltipla com os tipos de metais detectados nas amostras, juntamente com o fator tipo de trabalhador. Foi realizado um modelo com todas as variáveis, e utilizando o método *backward* foram realizados rounds subsequentes de análises, removendo as variáveis do modelo que apresentaram maior valor p. O modelo de regressão final ficou com apenas dois tipos de metais que influenciam no comprimento telomérico sendo eles Arsênio e Chumbo juntamente com o fator tipo de trabalho (Tabela 14). Nas análises com este modelo verificou-se que a detecção de Arsênio levou a uma diminuição no comprimento telomérico ( $\beta=-3,12$ ,  $p \leq 0,001$ ) enquanto a detecção de Chumbo tem um efeito contrário, ou seja, leva a um aumento do comprimento do telômero ( $\beta= 1,14$ ,  $p = 0,019$ ), já ser trabalhador do setor da construção civil leva a uma redução no comprimento telomérico dos indivíduos ( $\beta=-67,64$ ,  $p \leq 0,001$ )

**Tabela 14** - Modelo de regressão linear para o comprimento do telômero em relação a exposição a metais (Método Backward).

Variáveis	Coeficiente de Regressão ( $\beta$ )	Intervalo de confiança (95%) para Coeficiente de Regressão		p-valor
		Inferior	Superior	
<b>Tipo de trabalhador</b>				
Administrativo	-	-	-	-
Construção Civil	-67,64	-98,53	-36,74	<b>&lt;0,001</b>
<b>Arsênio</b>				
Concentração de Arsênio	-3,12	-4,75	-1,50	<b>&lt;0,001</b>
<b>Chumbo</b>				
Concentração de Chumbo	1,14	0,20	2,09	<b>0,019</b>
<b>Constante</b>	194,79	138,65	250,93	<b>&lt;0,001</b>

Variável Dependente: aTL (kb/genoma diplóide)

Em negrito destaco p-valor estatisticamente significativo ( $p$ -valor < 0,05)



**Figura 16** – Gráfico Forest Plot com os coeficientes de regressão (intervalo de confiança de 95%) para o comprimento do telômero em relação a exposição a metais (Modelo de regressão linear).

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo objetivou analisar o comprimento dos telômeros como potencial biomarcador da exposição ocupacional a agentes carcinogênicos no ambiente de trabalho de populações expostas aos agrotóxicos e na construção civil, a fim de determinar o risco da ocupação nestas classes de trabalhadores. Entende-se como risco ocupacional toda e qualquer possibilidade de ocorrência de acidentes e ou doenças relacionadas ao conteúdo e a intensidade do trabalho no ambiente ocupacional, as consequências advindas da exposição ocupacional podem ser leves ou apresentar gravidade específica<sup>53</sup>. Dentre os tipos de exposição ocupacional observa-se a exposição a agrotóxicos como uma das mais prevalentes em todo o mundo<sup>14</sup>.

Os agrotóxicos são as substâncias mais utilizadas em todo o mundo, entretanto o Brasil é um dos maiores consumidores dessas substâncias <sup>10</sup>. Os agrotóxicos podem ser utilizados para fins de saúde pública e ou uso doméstico <sup>8</sup>, e o uso intensivo pode desencadear grandes impactos representados no meio ambiente, questões sociais e na área de saúde, proporcionando altos custos com recuperação de áreas contaminadas, prevenção, diagnóstico e tratamento de intoxicações agudas e crônicas, afastamentos e aposentadorias por invalidez de trabalhadores rurais e até mortes por utilização dessas substâncias<sup>11</sup>. Alguns efeitos crônicos de saúde têm sido ligados à exposição aos pesticidas, incluindo neurológicos, reprodutivos ou problemas de desenvolvimento e câncer<sup>14</sup>.

Além dos agricultores, os trabalhadores da construção civil, compõe-se de profissionais com múltiplas exposições, uma vez que o setor da construção cresce diariamente e representa 7% da força de trabalho global. Este setor é responsável por 36% do consumo de energia, e 39% das emissões de dióxido de carbono mundialmente<sup>54</sup>. Ao todo a exposição ultrapassa mais de 70 diferentes substâncias como por exemplo fibras minerais naturais e artificiais, quartzo, cimento, pós diversos, tintas, escapamento de diesel, solventes etc<sup>55</sup>.

Diante deste cenário, estudos de biomonitoramento são importantes ferramentas para verificação dos efeitos genotóxicos em populações expostas em ambientes como os exemplificados acima. Principalmente quando utilizados biomarcadores de susceptibilidade ou exposição<sup>22, 23</sup>. Os biomarcadores de suscetibilidade ou exposição são normalmente indicadores de um estado biológico e possuem alta sensibilidade a efeitos de agentes ambientais, e são ferramentas muito importantes para a detecção de eventos genotóxicos em população

expostas<sup>22, 23</sup>. Até o momento vários biomarcadores de avaliação genética de análise de efeito precoce estão disponíveis para avaliação de respostas genotóxicas transitórias e permanentes, entretanto, apresentados em estudos de biomonitoramento em populações expostas ocupacionalmente, os mais utilizados são aberrações cromossômicas, frequência de micronúcleos e trocas de cromátides irmãs<sup>9</sup>.

Recentemente, o comprimento telomérico foi incluído como um biomarcador de detecção precoce de alterações de instabilidade genômica no contexto da exposição ocupacional provocados por agentes carcinogênicos. A técnica de PCR em Tempo Real para avaliação do comprimento dos telômeros é um método de baixo custo, no qual necessita de pequenas quantidades de DNA e possui um formato de alto rendimento, representando uma grande vantagem frente a outras metodologias<sup>37</sup>. A implementação desse tipo de técnica na no biomonitoramento de pessoas submetidas a exposição a agentes carcinogênicos que poderiam auxiliar no rastreo de ambientes de trabalho, e no desenvolvimento de maneiras de prevenir e proteger o indivíduo de tal exposição.

O primeiro estudo a avaliar o comprimento do telômero em resposta a uma exposição ocupacional foi publicado em 2009, quando Hoxha *et al.*, (2009)<sup>56</sup> analisaram a relação de exposição a poluição do tráfego com o risco de doenças cardiovasculares e neoplasias, avaliando uma população com uma idade mais avançada, e observaram que os telômeros de leucócitos é encurtado nos indivíduos expostos, demonstrando evidências relativas ao envelhecimento biológico precoce e risco de patologias nestes indivíduos.

Kahl; Silva e Silva, realizaram um estudo em 2016, demonstrando a efetividade da análise do comprimento do telômero em produtores de tabaco, identificando que a exposição aos agrotóxicos apresentou encurtamento do comprimento dos telômeros, entretanto observou-se que o mecanismo molecular de ação na exposição aos agrotóxicos sobre comprimento telomérico ainda não é totalmente compreensível<sup>25</sup>. Andreotti *et al.*, (2015)<sup>15</sup>, publicou um estudo analisando a associação entre exposição a agrotóxicos e comprimento relativo dos telômeros em indivíduos expostos e não expostos a agrotóxicos. Para isso avaliaram essa associação em três períodos diferentes dentro de uma coorte. Os autores analisaram o comprimento telomérico através da técnica de PCR em tempo real e seus resultados demonstraram que tanto o uso acumulativo quanto o uso recente de agrotóxicos impactaram no comprimento relativo dos telômeros. Duan *et al*, em 2017<sup>38</sup>, analisou a exposição a longo prazo ao omeotato pertencente ao grupo de organofosforado, e identificou alongamento dos

telômeros. No estudo de Kahl *et al.*, (2016)<sup>39</sup> a associação entre trabalhadores rurais expostos a uma mistura de agrotóxicos utilizados nas lavouras de tabaco levou a uma diminuição no comprimento absoluto do telômero, quando comparado com um grupo sem exposição. Por outro lado, no presente estudo no grupo de trabalhadores rurais expostos aos agrotóxicos, ao analisar o comprimento telomérico dos expostos em comparação ao grupo não exposto observou-se que embora apresentasse uma variação no comprimento do telômero entre os grupos não se encontrou diferença estatisticamente significativa.

O comprimento do telômeros conhecidamente, é influenciado pela idade, por seu papel no envelhecimento biológico <sup>28</sup>. Nosso estudo, não encontrou diferenças significativas, entre o comprimento do telômero e a idade em ambos os grupos de exposição analisados. Além de análise de correlação somente com o grupo exposto (trabalhadores rurais) entre as variáveis tempo de exposição aos agrotóxicos e o comprimento telomérico, também não se verificou uma correlação estatisticamente significativa entre as variáveis. Dentre as variáveis sociodemográficas, somente a variável etnia demonstrou uma diferença estatisticamente significativa no comprimento telomérico. Verificou-se que os indivíduos negros apresentaram um maior comprimento dos telômeros em relação aos indivíduos dos outros grupos étnicos. No estudo de Saad-Hussein *et al* (2019)<sup>42</sup>, avaliaram o comprimento do telômero como biomarcador para detecção precoce de câncer hepático em trabalhadores expostos a agrotóxicos com diferentes padrões de vida socioeconômicos. Os grupos analisados foram indivíduos com um grupo de 50 pesquisadores urbanos não expostos a agrotóxicos e 50 trabalhadores rurais. Entre os biomarcadores analisados, consta a avaliação do comprimento telomérico e a atividade da enzima telomerase. Nos indivíduos expostos verificou-se um encurtamento do comprimento dos telômeros e uma diminuição da atividade da enzima telomerase em comparação ao grupo não exposto.

O tabagismo é um agente tóxico conhecido e tem a capacidade de induzir danos no DNA<sup>57</sup>, já o consumo de bebida e seus metabólitos estão associados a dano nas cadeias de DNA, promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), oxidação e estresse contribuindo para a instabilidade genética <sup>58</sup>. Entretanto, neste estudo não encontrou-se diferença estatisticamente significativa no grupo exposto a agrotóxico quanto ao consumo de tabaco e bebida <sup>59</sup>.

Os agrotóxicos podem apresentar diferentes tipos de efeitos, de acordo com o a toxicologia e classificação dos mesmos. Quanto aos grupos, os organofosfatos,

organoclorados e carbamatos apresentam diferentes mecanismos de ação química e metabólica, exercendo diferentes efeitos no organismo humano. No presente estudo foram realizadas análises de correlação entre a exposição aos agrotóxicos e o comprimento dos telômeros, os resultados revelaram que o uso da abamectina contribui para uma tendência de aumento dos telômeros, enquanto a da cipermetrina, contribui para uma tendência a encurtamento dos telômeros. Estudos realizados com a coorte do *Agricultural Health Study* têm sugerido que os pesticidas têm impacto no comprimento telomérico. Estes estudos revelaram que o alacloro, ácido 2,4-diclorofenoxiacético, metolacloro, trifluralina, permetrina e toxafeno foram encontrados ser significativamente associado a comprimento do telômero mais curto. Entretanto, um estudo recente dentro desta mesma coorte revelou uma associação significativa entre a exposição ao alacloro e alongamento do telômero (Liu et al. 2021).

A indústria da construção civil abrange diversos tipos de profissionais, como pintores, carpinteiros, encanadores, eletricitas e trabalhadores de ferro, e são expostos a numerosos agentes físicos e químicos, como o amianto, sílica, outras poeiras, material particulado, solventes e outros produtos químicos<sup>39</sup>. No presente estudo, ao analisarmos o comprimento do telômero nos grupos expostos e não expostos da construção civil, verificamos uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, sendo que os trabalhadores deste setor apresentaram um menor comprimento telomérico em relação aos trabalhadores do setor administrativo. Em um estudo transversal com 77 controladores do tráfego (expostos ao material particulado) e 57 trabalhadores de escritório, também foi observado que os oficiais de trânsito tinham os telômeros mais curto em comparação com os trabalhadores de escritório todos pareados pela idade. Além disso, o estudo revelou que os oficiais de trânsito que trabalham em alta densidade de tráfego tem os telômeros mais curtos do que aqueles que trabalham com baixa densidade de tráfego<sup>60</sup>. Além disso, outros estudos demonstraram a utilização da avaliação do comprimento telomérico após exposição ocupacional em diversas classes de trabalhadores, Quintana-Sousa *et al.*, (2021)<sup>61</sup> avaliou o comprimento telomérico em indivíduos expostos a fumos de soldagem; Yu *et al.*, (2020)<sup>62</sup>, avaliou em indivíduos chineses expostos a carvão; Bazyka *et al.*, (2020)<sup>63</sup> avaliou a expressão genica e o comprimento telomérico de indivíduos expostos a radiação que participaram da construção de abrigos em Chernobyl.

Os estudos abrangendo profissionais da construção civil e telômeros são escassos e, portanto, esse resultado é expressivamente relevante para futuros estudos envolvendo essa população.

Nas análises de regressão linear múltipla verificou-se que a detecção de Arsênio levou a uma diminuição no comprimento telomérico, enquanto a detecção de Chumbo tem um efeito contrário, ou seja, leva a um aumento do comprimento do telômero. Além disso, o fator exposição levou a uma diminuição do comprimento telomérico. Nossos achados contradizem o estudo de Wu e colaboradores que avaliou o comprimento dos telômeros em trabalhadores de fábrica de baterias. Foi observado que em trabalhadores com níveis anormais de chumbo no sangue ou urina geralmente tem telômeros significativamente mais curtos do que os não expostos <sup>64</sup>.

Os estudos abrangendo profissionais da construção civil e telômeros são escassos e, portanto, esse resultado é relevante para futuros estudos envolvendo essa população.

## 7. CONCLUSÕES

Com base em nossos achados podemos concluir que:

1) Foi possível implementar o método de análise do comprimento dos telômeros de acordo com O'Calhagan et al. 2011. Além disso, no presente estudo verificou-se o comprimento dos telômeros como potencial biomarcador de exposição em populações expostas aos agrotóxicos e no ambiente da construção civil. Foi encontrado um encurtamento do telômero estatisticamente significativamente entre os trabalhadores da construção civil quando comparados ao grupo não exposto, o que pode sugerir que a avaliação do comprimento dos telômeros em trabalhadores expostos ao ambiente da construção civil podem ser indicativos de instabilidade genômica nesta população. Por outro lado, no grupo de expostos aos agrotóxicos quando comparado ao grupo controle não foi encontrada diferença estatisticamente significativa.

2) Foi possível correlacionar os dados sócio-demográficos e dados de exposição com o comprimento dos telômeros. Dentre as variáveis sócio-demográficas analisadas, somente a variável etnia demonstrou uma diferença estatisticamente significativa no comprimento telomérico. Verificou-se que os indivíduos negros apresentaram um maior comprimento dos telômeros em relação aos indivíduos dos outros grupos étnicos. Além disso, no presente trabalho foram realizadas análises de correlação entre a exposição aos agrotóxicos e o comprimento dos telômeros, os resultados revelaram que o uso da abamectina contribui para uma tendência de aumento dos telômeros, enquanto a da cipermetrina, contribui para uma tendência a encurtamento dos telômeros. Assim é possível sugerir a influência da utilização destes tipos específicos de agrotóxicos no comprimento dos telômeros.

3) Este estudo demonstrou o encurtamento dos telômeros nos trabalhadores expostos ao ambiente da construção civil. Além disso, foi realizada análises que levam a sugerir que o fator exposição é predominante para o encurtamento dos telômeros, o que podemos sugerir que a avaliação do comprimento dos telômeros possivelmente pode ser utilizada com biomarcador de exposição para este tipo de classe trabalhadora.

4) Análises de correlação entre a dosagem de metais e o comprimento dos telômeros revelaram que a presença de Arsênio levou a uma diminuição no comprimento telomérico, enquanto a presença de Chumbo levou a um aumento do comprimento dos telômeros. Assim, podemos sugerir que o material particulado gerado no ambiente da construção civil com a presença de metais como Arsênio e Chumbo podem influenciar no comprimento dos telômeros.

## 8. REFERÊNCIAS

1. Alexander M, Koutros S, Bonner MR, Barry KH, Alavanja MC, Andreotti G, et al. *Pesticide use and LINE-1 methylation among male private pesticide applicators in the Agricultural Health Study*. 2017;3(2).
2. INCA. *Diretrizes para a vigilância do câncer relacionado ao trabalho*. [Internet] Rio de Janeiro 2012.
3. Oliveira PA, Colaço A, Chaves R, Guedes-Pinto H, De-La-Cruz P, Luis F, et al. *Chemical carcinogenesis*. **Anais da academia brasileira de ciências**. 2007;79(4):593-616.
4. Brey C, Gouveia FT, Silva BS, Sarquis LMM, Miranda FMDA, Consonni D. *Lung cancer related to occupational exposure: an integrative review*. **Revista gaucha de enfermagem**. 2020;41.
5. Olsson A, Kromhout H. *Occupational cancer burden: the contribution of exposure to process-generated substances at the workplace*. **Molecular Oncology**. 2021;15(3):753-63.
6. Peters JM, Gonzalez FJ. *The evolution of carcinogenesis*. **Toxicological sciences**. 2018;165(2):272-6.
7. Micallef CM, Shield KD, Baldi I, Charbotel B, Fervers B, Ilg AGS, et al. *Occupational exposures and cancer: a review of agents and relative risk estimates*. 2018;75(8):604-14.
8. Maroni M, Fanetti AC, Metruccio FJLMDl. *Risk assessment and management of occupational exposure to pesticides in agriculture*. 2006;97(2):430-7.
9. Bolognesi CJMRRiMR. *Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies*. 2003;543(3):251-72.
10. EMBRAPA. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária* [Internet] 2021; Available from: <https://www.embrapa.br/>.
11. Saúde Md. *Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos* [Internet] 2015; Available from: <http://www.agroecologia.gov.br/publicacoes/relat%C3%B3rio-nacional-de-vigil%C3%A2ncia-em-sa%C3%BAde-de-popula%C3%A7%C3%B5es-expostas-agrot%C3%B3xicos>
12. Waggoner JK, Kullman GJ, Henneberger PK, Umbach DM, Blair A, Alavanja MC, et al. *Mortality in the agricultural health study, 1993–2007*. 2011;173(1):71-83.
13. Weichenthal S, Moase C, Chan PJEhp. *A review of pesticide exposure and cancer incidence in the Agricultural Health Study cohort*. 2010;118(8):1117-25.

14. Bolognesi C, Creus A, Ostrosky-Wegman P, Marcos RJM. *Micronuclei and pesticide exposure*. 2011;26(1):19-26.
15. Andreotti G, Hoppin JA, Hou L, Koutros S, Gadalla SM, Savage SA, et al. *Pesticide use and relative leukocyte telomere length in the agricultural health study*. 2015;10(7):e0133382.
16. Blair A, Freeman LB. *Epidemiologic studies in agricultural populations: observations and future directions*. **J Agromedicine**. 2009;14(2):125-31.
17. Fritschi L, McLaughlin J, Sergi C, Calaf G, Le Curieux F, Forastiere F, et al. *Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate*. 2015;114(2):70134-8.
18. Silva IR, Ramos MC, Arantes LM, Lengert AV, Oliveira MA, Cury FP, et al. *Evaluation of DNA methylation changes and micronuclei in workers exposed to a construction environment*. 2019;16(6):902.
19. Algranti E, Ramos-Bonilla JP, Terracini B, Santana VS, Comba P, Pasetto R, et al. *Prevention of asbestos exposure in Latin America within a global public health perspective*. 2019;85(1).
20. Bull S, Fletcher K, Boobis A, Battershill JJM. *Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review*. 2006;21(2):93-103.
21. Dey P, Samanta S, Susheilia SJDc. *Micronucleus assay in buccal smears of breast carcinoma patients*. 2012;40(8):664-6.
22. Kelly RS, Vineis PJBmb. *Biomarkers of susceptibility to chemical carcinogens: the example of non-Hodgkin lymphomas*. 2014;111(1):89-100.
23. Organization wH. *World Health Organization*. [Internet] 2021; Available from: <https://www.who.int/>.
24. Iavicoli I, Leso V, Schulte PAJT, pharmacology a. *Biomarkers of susceptibility: state of the art and implications for occupational exposure to engineered nanomaterials*. 2016;299:112-24.
25. Kahl VFS, da Silva J, da Silva FRJMRF, Mutagenesis MMo. *Influence of exposure to pesticides on telomere length in tobacco farmers: A biology system approach*. 2016;791:19-26.
26. Calado RTJH. *Telomeres and marrow failure*. 2009;2009(1):338-43.
27. Bhari VK, Kumar D, Kumar S, Mishra R. *Shelterin complex gene: Prognosis and therapeutic vulnerability in cancer*. **Biochemistry Biophysics Reports**. 2021;26:100937.

28. Colicino E, Wilson A, Frisardi MC, Prada D, Power MC, Hoxha M, et al. *Telomere length, long-term black carbon exposure, and cognitive function in a cohort of older men: the VA Normative Aging Study*. 2017;125(1):76-81.
29. Roake CM, Artandi SEJN. *Telomere-lengthening mechanism revealed*. 2016;539(7627):35-6.
30. Bojesen SEJJoim. *Telomeres and human health*. 2013;274(5):399-413.
31. Hou L, Andreotti G, Baccarelli AA, Savage S, Hoppin JA, Sandler DP, et al. *Lifetime pesticide use and telomere shortening among male pesticide applicators in the agricultural health study*. 2013;121(8):919-24.
32. Croom EJPimb, science t. *Metabolism of xenobiotics of human environments*. 2012;112:31-88.
33. Behrens YL, Thomay K, Hagedorn M, Ebersold J, Henrich L, Nustede R, et al. *Comparison of different methods for telomere length measurement in whole blood and blood cell subsets: recommendations for telomere length measurement in hematological diseases*. 2017;56(9):700-8.
34. Mender I, Shay JWJB-p. *Telomere restriction fragment (TRF) analysis*. 2015;5(22).
35. Montpetit AJ, Alhareeri AA, Montpetit M, Starkweather AR, Elmore LW, Filler K, et al. *Telomere length: a review of methods for measurement*. 2014;63(4):289.
36. Cawthon RMJNar. *Telomere measurement by quantitative PCR*. 2002;30(10):e47-e.
37. O'Callaghan NJ, Fenech MJBpo. *A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length*. 2011;13(1):1-10.
38. Duan X, Yang Y, Wang S, Feng X, Wang T, Wang P, et al. *Changes in the expression of genes involved in cell cycle regulation and the relative telomere length in the process of canceration induced by omethoate*. 2017;39(7):1010428317719782.
39. Kahl VFS, Simon D, Salvador M, Branco CdS, Dias JF, da Silva FR, et al. *Telomere measurement in individuals occupationally exposed to pesticide mixtures in tobacco fields*. 2016;57(1):74-84.
40. Kahl VFS, da Silva FR, da Silva Alves J, da Silva GF, Picinini J, Dhillon VS, et al. *Role of PON1, SOD2, OGG1, XRCC1, and XRCC4 polymorphisms on modulation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides*. 2018;159:164-71.
41. Kahl VFS, Dhillon V, Fenech M, de Souza MR, da Silva FN, Marroni NAP, et al. *Occupational exposure to pesticides in tobacco fields: the integrated evaluation of nutritional intake and susceptibility on genomic and epigenetic instability*. 2018;2018.

42. Saad-Hussein A, Beshir S, Taha MM, Shahy EM, Shaheen W, Abdel-Shafy EA, et al. *Early prediction of liver carcinogenicity due to occupational exposure to pesticides*. 2019;838:46-53.
43. Wang W, Zhang H, Duan X, Feng X, Wang T, Wang P, et al. *Association of genetic polymorphisms of miR-145 gene with telomere length in omethoate-exposed workers*. 2019;172:82-8.
44. de Oliveira AF, de Souza MR, Benedetti D, Scotti AS, Piazza LS, Garcia ALH, et al. *Investigation of pesticide exposure by genotoxicological, biochemical, genetic polymorphic and in silico analysis*. 2019;179:135-42.
45. Zhou X, Wei W, Duan X, Zhang H, Feng X, Wang T, et al. *Effect of TRF 1 rs3863242 polymorphism on telomere length in omethoate-exposed workers*. **Journal of Environmental Science Health, Part B**. 2020;55(6):525-9.
46. Zhou X, Li X, Wei W, Duan X, Zhang H, Ding M, et al. *Association between genetic polymorphisms of telomere pathway genes and hydrogen peroxide level in omethoate exposure workers*. **Environmental Toxicology Pharmacology**. 2021;82:103541.
47. Hou J, Yin W, Li P, Hu C, Xu T, Cheng J, et al. *Joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalates exposure on telomere length and lung function*. **Journal of hazardous materials**. 2020;386:121663.
48. Gaikwad AS, Mahmood R, Ravichandran B, Kondhalkar S. *Evaluation of telomere length and genotoxicity among asphalt associated workers*. **Mutation Research/Genetic Toxicology Environmental Mutagenesis**. 2020;858:503255.
49. Quintana-Sosa M, León-Mejía G, Luna-Carrascal J, Rodríguez IL, Acosta-Hoyos A, Anaya-Romero M, et al. *Cytokinesis-block micronucleus cytome (CBMN-CYT) assay biomarkers and telomere length analysis in relation to inorganic elements in individuals exposed to welding fumes*. **Ecotoxicology Environmental Safety**. 2021;212:111935.
50. Boffetta P, Pershagen Gr, Jöckel K-H, Forastiere F, Gaborieau V, Heinrich J, et al. *Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: a multicenter study from Europe*. 1999;91(8):697-701.
51. Sartor SG, Eluf-Neto J, Travier N, Wünsch Filho V, Arcuri ASA, Kowalski LP, et al. *Riscos ocupacionais para o câncer de laringe: um estudo caso-controle*. 2007;23(6):1473-81.
52. Study AH. *The Agricultural Health Study works to understand how agricultural, lifestyle, and genetic factors affect the health of farming populations*. [Internet] 2021; Available from: <https://aghealth.nih.gov/>.
53. Wang YL, Liu HQ, Li YJ, Jing H, Zhang F, Ji L. *[Visualization analysis of relevant literature on occupational health risk assessment from 2010 to 2019]*. **Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi**. 2021;39(5):346-50.

54. PubMed. Cahuana Pinto RSM, Castro Panzenhagen A, Silva Oliveira LF, Fonseca Moreira JC, Schnorr CE. *Incidence of lung cancer and mortality among civil construction industry workers: A protocol for a systematic review and meta-analysis*. **PloS one**. 2021;16(4):e0250377-e.
55. Ortega Herrera J. *Contaminantes químicos en la construcción*. 2004.
56. PubMed. Hoxha M, Dioni L, Bonzini M, Pesatori AC, Fustinoni S, Cavallo D, et al. *Association between leukocyte telomere shortening and exposure to traffic pollution: a cross-sectional study on traffic officers and indoor office workers*. **Environmental health : a global access science source**. 2009;8:41-.
57. Boulanger M, Tual S, Lemarchand C, Guizard A-V, Delafosse P, Marcotullio E, et al. *Lung cancer risk and occupational exposures in crop farming: results from the AGRiculture and CANcer (AGRICAN) cohort*. **Occupational environmental medicine**. 2018;75(11):776-85.
58. Seitz HK, Stickel F. *Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis*. **Nature Reviews Cancer**. 2007;7(8):599-612.
59. Sailaja N, Chandrasekhar M, Rekhadevi P, Mahboob M, Rahman M, Vuyyuri SB, et al. *Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production*. **Mutation Research/Genetic Toxicology Environmental Mutagenesis**. 2006;609(1):74-80.
60. Hoxha M, Dioni L, Bonzini M, Pesatori AC, Fustinoni S, Cavallo D, et al. *Association between leukocyte telomere shortening and exposure to traffic pollution: a cross-sectional study on traffic officers and indoor office workers*. **Environ Health**. 2009;8:41.
61. Quintana-Sosa M, León-Mejía G, Luna-Carrascal J, De Moya YS, Rodríguez IL, Acosta-Hoyos A, et al. *Cytokinesis-block micronucleus cytome (CBMN-CYT) assay biomarkers and telomere length analysis in relation to inorganic elements in individuals exposed to welding fumes*. **Ecotoxicol Environ Saf**. 2021;212:111935.
62. Yu SN, Chen SQ, Fan GQ, Pan WZ, Jia J, Wang Q, et al. *Relative Telomere Length in Peripheral Blood Cells and Hypertension Risk among Mine Workers: A Case-Control Study in Chinese Coal Miners*. **Biomed Res Int**. 2020;2020:5681096.
63. Bazyka D, Iliencko I, Golyarnik N, Belyaev O, Lyaskivska O. *Gene Expression and Cellular Markers of Occupational Radiation Exposure in Chernobyl Shelter Construction Workers*. **Health Phys**. 2020;119(1):37-43.
64. Wu Y, Liu Y, Ni N, Bao B, Zhang C, Lu L. *High lead exposure is associated with telomere length shortening in Chinese battery manufacturing plant workers*. **Occup Environ Med**. 2012;69(8):557-63.



## APÊNDICES

### APÊNDICE I- FICHA DE AVALIAÇÃO DOS TRABALHADORES RURAIS

AVALIAÇÃO DE RISCO E CONSCIENTIZAÇÃO DO CÂNCER OCUPACIONAL EM TRABALHADORES RURAIS NA REGIÃO DE BARRETOS			
P.I. HENRIQUE CÉSAR SANTEJO SILVEIRA			
IDENTIFICAÇÃO			
1	ID	1	
2	Identificação da amostra	2	
3	Região de coleta 1- Barretos; 2- Outro	3	
4	Se outro, qual? Descrever	4	
5	Tipo de trabalhador 1- Trabalhador não rural; 2- Trabalhador rural	5	
6	Reside e trabalha na região por pelo menos 1 ano? 0- Não; 1- Sim	6	
7	Data de nascimento DD/MM /AAAA	7	
8	Idade Idade em anos – A idade precisa estar entre 21 e 65 anos	8	os dois grupos
9	Você tem ou já teve câncer? 0- Não; 1- Sim	9	para todos
Controles			
10	Ao longo da vida, você já trabalhou com algum desses agentes tóxicos? Marque todos que houveram? 1- Carvão mineral (coqueria); 2- Hidrocarbonetos aromáticos (ex: combustão de material orgânico em geral); 3- Cromo (revestimentos de metais); 4- Níquel (siderúrgicas, indústria do metal); 5- Antineoplásicos; 6- Solventes (benzeno); 7- Gasolina (postos de gasolina; indústria de petróleo); 8- Asbestos ou amianto (construção civil); 9- Radiação de RX (laboratórios; hospitais); 10- Poeira de metais (solda); 11- Pó de madeira (construção de móveis, construção civil); 12-	10	checkbox  somente para controles – para o controle residir a pelo menos 1 ano, entrar dentro da faixa, não ter tido câncer, e

	Sílica (fabricação de vidro, cimento, construção civil em geral); 13- Mercúrio (indústria de eletrônicos, soda cáustica); 14- Cádmiio (baterias); 15- Xilol (laboratórios; hospitais)		nao para todas as substancias var 6=1, var 8>=21 e <=65; var 9=0 e var 10=0 para todas as opções
11	Não cumpre os critérios de inclusão – não pode participar da pesquisa	11	Se não cumprir o critério acima
<b>Trabalhador rural</b>			
12	Trabalha atualmente como trabalhador rural como atividade principal? 0- Não; 1- Sim	12	5, 7 e 8 são comuns e mais as específicas
13	Trabalhou por pelo menos 5 anos com agrotóxico(s)? 0- Não; 1- Sim	13	somente para rural
14	Não cumpre os critérios de inclusão – não pode participar da pesquisa	14	var 6=1, var 8>=21 e <=65; var 9=0'; var12=1;var13=1
<b>TCLE</b>			
15	Data de assinatura do TCLE	15	
16	TCLE	16	campo descritivo
17	Nome completo do participante de pesquisa Descrever	17	
18	Precisou ser assinado por representante legal? 0- Não; 1- Sim	18	
19	Nome completo do representante legal Descrever	19	se var acima =1
20	Assinatura do participante de pesquisa ou representante legal	20	campo de assinatura
21	Nome por extenso do pesquisador Descrever	21	
22	Assinatura do pesquisador	22	assinatura
23	Foi necessário testemunha imparcial? 0- Não; 1- Sim	23	

24	Nome por extenso da testemunha imparcial (para casos de analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência visual) Descrever	24	
25	Assinatura da testemunha imparcial	25	assinatura
26	Upload do termo	26	file upload
Questionario epidemiológico			
27	Início da entrevista HH:MM	27	
INFORMAÇÕES GERAIS			
28	Sexo 1- Feminino; 2; Masculino	28	
29	Peso Em kg; 999- Ignorado	29	
30	Altura Em metros; 999- Ignorado	30	
31	IMC	31	Campo calculado
32	Etnia 1- Branco; 2- Negro; 3- Pardo; 4- Indígena; 5- Oriental; 6- Outros; 999- Ignorado	32	radio
33	Mora 1- Zona rural; 2- Zona urbana	33	radio
34	Estudou até que série ou ano? 1- Analfabeto; 2- Ensino fundamental incompleto; 3- Ensino fundamental completo; 4- Ensino médio incompleto; 5- Ensino médio completo; 6- Superior incompleto; 7- Superior completo; 999- Ignorado	34	radio
35	Telefone 1 ( ) ; 999- Ignorado	35	
36	Observacao telefone 1 Descrever	36	
37	Telefone 2 ( ) ; 999- Ignorado	37	
38	Observacao telefone 2 Descrever	38	

39	Telefone 3 ( ) ; 99- Ignorado	39	
40	Observacao telefone 3 Descrever	40	
41	Cidade de Residência Descrever ; 999- Ignorado	41	
42	Estado de Residência atual 1, AC   2, AL   3, AP   4, AM   5, BA   6, CE   7, DF   8, ES   9, GO   10, MA   11, MT   12, MS   13, MG   14, PA   15, PB   16, PR   17, PE   18, PI   19, RJ   20, RN   21, RS   22, RO   23, RR   24, SC   25, SP   26, SE   27, TO   99, Ignorado	42	dropdown
43	Trabalha 1- Zona rural; 2- Zona urbana	43	
44	Cidade em que trabalha Descrever ; 99- Ignorado	44	
45	Estado em que trabalha 1, AC   2, AL   3, AP   4, AM   5, BA   6, CE   7, DF   8, ES   9, GO   10, MA   11, MT   12, MS   13, MG   14, PA   15, PB   16, PR   17, PE   18, PI   19, RJ   20, RN   21, RS   22, RO   23, RR   24, SC   25, SP   26, SE   27, TO   999, Ignorado	45	dropdown
<b>HÁBITO DE FUMAR</b>			
46	Você é fumante? 0- Nunca fumou; 1- Atual; 2- No passado; 999- Ignorado	46	
47	Se ex-fumante, faz quantos anos que parou? Em anos; 999- Ignorado	47	abrir se opção 2
48	Por quanto tempo fuma/fumou?	48	Abrir se 1 ou 2

	Em anos; 888- Não se aplica; 999- Ignorado		
49	Por quanto tempo fuma/fumou? Em meses; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	49	Abrir se 1 ou 2
50	Tempo total de tabaco	50	campo calculado – somar tempos
51	Quantos cigarros fuma/fumava por dia? Número; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	51	Abrir se 1 ou 2
<b>FUMANTES PASSIVOS</b>			
52	Você convive com algum fumante em casa todos os dias? 0- Não; 1- Sim; 999- Ignorado	52	
53	Por quanto tempo permanece perto desta pessoa por dia? Tempo em horas; 999- Ignorado	53	colocar dropdown para aparecer somente se 1 na questao acima
<b>HÁBITOS DE BEBIDA</b>			
54	Você tem hábito de beber? 0- Não; 1- Sim	54	
55	Se sim, quantos dias por mês? 1-31	55	dropdown (1-31)
56	O que você bebe? 1- Cerveja; 2- Pinga/cachaça; 3- Vinho; 4- Vodka; 5- Outro(s); 999- Ignorado	56	checkbox
57	Quantidade de cerveja (cada dia que bebe) Em copos americanos (200ml); 999- Ignorado	57	Dropdown (1-60) – BL se 1
58	Quantidade de pinga/cachaça (cada dia que bebe) Em copo de dose (30ml); 999- Ignorado	58	Dropdown (1-60) – BL se 2
59	Quantidade de vinho (cada dia que bebe) Em copos americanos (200ml); 999- Ignorado	59	Dropdown (1-60) – BL se 3
60	Quantidade de vodka (cada dia que bebe) Em copos americanos (200ml); 999- Ignorado	60	Dropdown (1-60) – BL se 4
61	Se outro(s), qual? (cada dia que bebe) Descrever; 999- Ignorado	61	Dropdown (1-60) – BL se 4

62	Há quanto tempo você tem esse hábito? Em anos	62	
<b>HISTÓRICO DE DOENÇAS</b>			
63	Você já teve verrugas na pele? 0- Não; 1- Sim; 999- Ignorado	63	
64	Local das verrugas: 1- Mãos; 2- Pés; 3- Cabeça e pescoço; 4- Outros locais; 999- Ignorado	64	Checkbox, abrir se 1 na var acima
65	Local das verrugas: Outros locais Especifique; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	65	Abir se 4 acima
66	Você já teve câncer? 0- Não; 1- Sim; 999- Ignorado	66	
67	Se sim, foi tratado com quimioterápico? Descrever; 999- Ignorado	67	Abir se 1 acima
<b>COMORBIDADES</b>			
68	Você tem: 1- Asma / bronquite; 2- Outras Doenças Respiratórias; 3- Doença Cardiovascular; 4- Pressão Alta; 5- Diabetes; 6- Hepatite; 7- Tuberculose; 8- Esquistossomose; 9- AIDS; 10- Doença de Chagas; 11- Hepatite; 12- Herpes; 13- Papiloma vírus Humano (HPV); 14- Outro(s);	68	checkbox
69	Se Hepatite, qual o tipo 1- A; 2- B; 3- C; 4- D; 5- E	69	checkbox – abrir se 11 acima
70	Se outro(s), Descrever; 999- Ignorado	70	Se 14 acima
<b>QUESTÕES SOBRE SINTOMAS DE ASMA (ECHRS) E BRONQUITE CRÔNICA</b>			
Para responder a estas questões se o paciente não estiver com certeza, assinale “não”			
71	Sintomas 1- Chiado no peito; 2- Tosse seca; 3- Tosse com catarro; 4- Falta de ar em repouso; 5- Falta de ar quando faz esforço; 6- Espirro frequente; 7- Coceira no nariz ou na garganta; 8- Mudança na voz; 9- Tontura (frequente); 10- Dor de cabeça (frequente); 11- Câimbra (frequente); 12- Dores nas costas; 13- Dores nos MMSS (membros superiores); 14- Dores nos MMII (membros inferiores)	71	checkbox
<b>HISTÓRIA DE CÂNCER NA FAM LIA</b>			
72	Câncer em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos) 0- Não; 1- Sim; 999- Ignorado	72	

73	Se sim, em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos): 1- Pulmão; 2- Mama; 3- Endométrio; 4- Colorretal; 5- Ovário; 6- Gástrico; 7- Outro(s); 999- Ignorado	73	Checkbox, se 1 na anterior
74	Outros tipos de câncer de familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos) Especifique; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	74	Se 7 na anterior
<b>SOMENTE PARA OS TRABALHADORES RURAIS</b>			
75	Trabalha no campo há quanto tempo (total)? Em anos; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	75	Branching logic – somente para trabalhador rural
76	Voce trabalha (se você trabalhar nos dois, considere a principal atividade): 1- Na agricultura familiar; 2- Para uma empresa	76	radio
77	Qual tipo de plantação atual? 1- Cana-de-açúcar; 2- Soja; 3- Hortaliças; 4- Citrus; 5- Pastagem; 6- Milho; 7- Seringueira; 8- Outro(s); 999- Ignorado	77	checkbox
78	Se outro(s) Descrever; 999- Ignorado	78	
79	Qual tipo de plantação já trabalhou no passado? 1- Cana-de-açúcar; 2- Soja; 3- Hortaliças; 4- Citros; 5- Pastagem; 6- Milho; 7- Seringueira; 8- Outro(s); 999- Ignorado	79	checkbox
80	Se outro(s) Descrever; 999- Ignorado	80	
81	Você já teve alguma doença relacionada ao trabalho? 0- Não; 1- Sim; 999- Ignorado	81	
82	Qual(is)? Especifique; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	82	
83	Quantas horas você trabalha por dia? Em horas; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	83	
84	Quantos dias da semana você trabalha? Em horas; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	84	
85	Faz quanto tempo que esta nessa função atual? Em anos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	85	

86	<p>Com quais tipos de agrotóxicos você trabalha/trabalhou?</p> <p>1- 2,4 D (Fersol, Amina 72, DMA 480 BR) 2- Abamectin (A) (Abamectin Nortox, Abamex; Abamit; Grimectin; Kraft 36 CE; Vertimec 18 CE) 3- Aldicarb (Temik 150) 4- Amitraz (Parsec) 5- Atrazina (Atranex 500 SC; Atrazina Nortox 500 SC; Atrazinax 500; Controller; Primagram Gold; Triamex 500 SC) 6- Azoxistrobina (Azoxystrobin) (Amistar; Primo; Priori); 7- Bentazol(A) (Banir; Pramato); 8- Carbendazim (Bendazol; Carben 500 SC; Derosal 500 SC); 9- Carbofuran (Carboran Fersol; Diafuran; Furadan; Ralzer); 10- Cihexatina (Acarstin; Hokko Cyhexatin 500) 11- Cipermetrina (Arrivo; Cipertrin; Sherpa); 12- Ciproconazol (E) (Priori XTRA; Resist; Verdadero); 13- Clomazone (Gamit; Sinerge) 14- Clorimuron etílico (Classic; Conquest); 15- Clorpirifós (Clorpyrifos) (Fersol; Lorsban); 16- Deltametrina (Decis; Decisdan; K-Obiol; K-Othrine) 17- Diazinon (Diazol) 18- Diuron (Ametron; Diurex; Herburon; Karmex; Velpar); 19-Estrobilurina 20- Glifosato (Glyphosate)(Agrisato; Glifos; Radar; Roundup; Trop; Tropazin); 21- Haloxifop-R (Gallant; Verdict); 22- Hexazinone(A) (Advance; Hexaron; Velpar K GRDA); 23- Hidróxido de cobre (Contact; Garrant; Garra; Supera); 24- Imidacloprido (Confidor; Evidence; Gaucho, Premier); 25- Malathion (Malathion); 26- Oxicloreto de cobre (Cupuran; Difere; Fungitol; Resist); 27- Piraclostrobina (Comet; Opera); 28- Sodium Hydrogen Methylarsonate (MSMA 720) (Fortex; Volcane); 29- Sulfato de cobre (Agrimaicin); 30- Thiamethoxan (Actara; Adante; Verdadero 600 WG); 31- Outro</p>	86	checkbox
2,4 D			
87	<p>Se exposto, atual ou passado?</p> <p>1- Atual; 2- Passado</p>	87	checkbox
88	<p>Se passado, faz quanto tempo que parou?</p> <p>Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado</p>	88	BL se 2 na var. Acima dropdown
89	<p>Por quanto tempo usou/usa a substância?</p> <p>Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado</p>	89	
Abamectin (A)			
90	<p>Se exposto, atual ou passado?</p> <p>1- Atual; 2- Passado</p>	90	checkbox
91	<p>Se passado, faz quanto tempo que parou?</p> <p>Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado</p>	91	BL se 2 na var. Acima dropdown
92	<p>Por quanto tempo usou/usa a substância?</p>	92	

	Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado		
<b>Aldicarb</b>			
90	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	90	checkbox
91	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	91	BL se 2 na var. Acima dropdown
92	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	92	
<b>Amitraz</b>			
93	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	90	checkbox
94	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	91	BL se 2 na var. Acima dropdown
95	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	92	
<b>Atrazina</b>			
96	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	96	checkbox
97	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	97	BL se 2 na var. Acima dropdown
98	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	98	
<b>Azoxistrobina (Azoxystrobin)</b>			
99	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	99	checkbox
100	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	100	BL se 2 na var. Acima dropdown
101	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	101	
<b>Bentazol(A)</b>			
102	Se exposto, atual ou passado?	99	checkbox

	1- Atual; 2- Passado		
103	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	100	BL se 2 na var. Acima dropdown
104	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	101	
<b>Carbendazim</b>			
105	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	105	checkbox
106	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	106	BL se 2 na var. Acima dropdown
107	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	107	
<b>Carbofuran</b>			
108	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	108	checkbox
109	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	109	BL se 2 na var. Acima dropdown
110	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	110	
<b>Cihexatina (banido pela Anvisa)</b>			
111	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	111	checkbox
112	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	112	BL se 2 na var. Acima dropdown
113	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	113	
<b>Cipermetrina</b>			
114	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	114	checkbox
115	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	115	BL se 2 na var. Acima dropdown
116	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	116	

Ciproconazol (E)			
117	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	117	checkbox
118	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	118	BL se 2 na var. Acima dropdown
119	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	119	
Clomazone			
120	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	120	checkbox
121	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	121	BL se 2 na var. Acima dropdown
122	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	122	
Clorimuron etílico			
123	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	123	checkbox
124	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	124	BL se 2 na var. Acima dropdown
125	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	125	
Clorpirifós (Clorpyrifos)			
126	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	126	checkbox
127	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	127	BL se 2 na var. Acima dropdown
128	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	128	
Deltametrina			
129	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	129	checkbox
130	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	130	BL se 2 na var. Acima dropdown

131	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	131	
<b>Diazinon</b>			
132	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	132	checkbox
133	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	133	BL se 2 na var. Acima dropdown
134	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	134	
<b>Diuron</b>			
135	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	135	checkbox
136	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	136	BL se 2 na var. Acima dropdown
137	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	137	
<b>Estrobulurina</b>			
138	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	138	checkbox
139	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	139	BL se 2 na var. Acima dropdown
140	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	140	
<b>Glifosato (Glyphosate)</b>			
141	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	141	checkbox
142	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	142	BL se 2 na var. Acima dropdown
143	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	143	
<b>Haloxifop-R</b>			
144	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	144	checkbox

145	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	145	BL se 2 na var. Acima dropdown
146	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	146	
Hexazinone(A)			
147	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	147	checkbox
148	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	148	BL se 2 na var. Acima dropdown
149	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	149	
Hidróxido de cobre			
150	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	150	checkbox
151	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	151	BL se 2 na var. Acima dropdown
152	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	152	
Imidacloprido			
153	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	153	checkbox
154	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	154	BL se 2 na var. Acima dropdown
155	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	155	
Malathion			
156	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	156	checkbox
157	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	157	BL se 2 na var. Acima dropdown
158	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	158	
Oxicloreto de cobre			

159	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	159	checkbox
160	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	160	BL se 2 na var. Acima dropdown
161	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	161	
<b>Piraclostrobina</b>			
162	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	162	checkbox
163	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	163	BL se 2 na var. Acima dropdown
164	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	164	
<b>Sodium Hydrogen Methylarsonate (MSMA 720)</b>			
165	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	165	checkbox
166	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	166	BL se 2 na var. Acima dropdown
167	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	167	
<b>Sulfato de cobre</b>			
168	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	168	checkbox
169	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	169	BL se 2 na var. Acima dropdown
170	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	170	
<b>Thiamethoxan</b>			
171	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	171	checkbox
172	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	172	BL se 2 na var. Acima dropdown
173	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	173	

Outro			
174	Se exposto, atual ou passado? 1- Atual; 2- Passado	174	checkbox
175	Se passado, faz quanto tempo que parou? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	175	BL se 2 na var. Acima dropdown
176	Por quanto tempo usou/usa a substância? Em anos; Entre 0 (menos de 1 ano) e 65; 999- Ignorado	176	
Incidente 1			
177	Quais os métodos que voce utiliza para a aplicação do agrotóxico? 0- Não aplico; 1- Pulverizador costal manual; 2- Pulverizador motorizado; 3- Pulverizador de barra e atomizador; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	177	checkbox – Somente se marcou alguma opcao
178	Tem ou teve contato com agrotóxico aplicado por pulverização aérea? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica 999- Ignorado	178	
179	Você utiliza atualmente a mistura de agrotóxicos (bomba química/mistura de tanque)? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica 999- Ignorado	179	
180	Se sim, quando prepara a bomba química, quais os aditivos costuma utilizar? 1- Solventes (gasolina/diesel); 2- Fertilizantes; 3- Outros pesticidas; 4- Surfactantes; 5- Óleo de culturas; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	180	checkbox
181	Você já teve algum incidente/experiência usando algum tipo de agrotóxico? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica 999- Ignorado	181	
182	Se sim, quantas vezes? 1-5; mais de 5 (coletar apenas 5)	182	dropdown
Incidente 1			
183	Há quantos anos? Em anos; 888- Não se aplica 999- Ignorado	183	
184	Há quantos meses? Em meses; 888- Não se aplica 999- Ignorado	184	
185	Tempo total em anos Tempo total em anos	185	Campo calculado
186	Qual parte do corpo esteve exposta ao agrotóxico? 1- Cabeça/face; 2- Braços; 3- Mãos 4- Abdômen; 5- Pernas/pés;	186	checkbox

	6- Pulmão e trato respiratório; 7- Trato digestivo; 888- Não se aplica; 999- Ignorado		
187	Quanto tempo depois desse incidente/experiência o Sr.(a) se lavou/banhou? 1- Cerca de 30 minutos; 2- 30-59 minutos; 3- 1 a 3 horas ;4- 4 a 6 horas; 5- 7 a 9 horas; 6- Mais de 9 horas depois do incidente; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	187	radio
Incidente 2			
188	Há quanto tempo? Em meses; 888- Não se aplica 999- Ignorado	188	
189	Qual parte do corpo esteve exposta ao agrotóxico? 1- Cabeça/face; 2- Braços; 3- Mãos 4- Abdômen; 5- Pernas/pés; 6- Pulmão e trato respiratório; 7- Trato digestivo; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	189	checkbox
190	Quanto tempo depois desse incidente/experiência o Sr.(a) se lavou/banhou? 1- Cerca de 30 minutos; 2- 30-59 minutos; 3- 1 a 3 horas ;4- 4 a 6 horas; 5- 7 a 9 horas; 6- Mais de 9 horas depois do incidente; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	190	radio
Incidente 3			
191	Há quanto tempo? Em meses; 888- Não se aplica 999- Ignorado	191	
192	Qual parte do corpo esteve exposta ao agrotóxico? 1- Cabeça/face; 2- Braços; 3- Mãos 4- Abdômen; 5- Pernas/pés; 6- Pulmão e trato respiratório; 7- Trato digestivo; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	192	checkbox
193	Quanto tempo depois desse incidente/experiência o Sr.(a) se lavou/banhou? 1- Cerca de 30 minutos; 2- 30-59 minutos; 3- 1 a 3 horas ;4- 4 a 6 horas; 5- 7 a 9 horas; 6- Mais de 9 horas depois do incidente; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	193	radio
Incidente 4			
194	Há quanto tempo? Em meses; 888- Não se aplica 999- Ignorado	194	
195	Qual parte do corpo esteve exposta ao agrotóxico? 1- Cabeça/face; 2- Braços; 3- Mãos 4- Abdômen; 5- Pernas/pés; 6- Pulmão e trato respiratório; 7- Trato digestivo; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	195	checkbox
196	Quanto tempo depois desse incidente/experiência o Sr.(a) se lavou/banhou?	196	radio

	1- Cerca de 30 minutos; 2- 30-59 minutos; 3- 1 a 3 horas ;4- 4 a 6 horas; 5- 7 a 9 horas; 6- Mais de 9 horas depois do incidente; 888- Não se aplica; 999- Ignorado		
<b>Incidente 5</b>			
197	Há quanto tempo? Em meses; 888- Não se aplica 999- Ignorado	197	
198	Qual parte do corpo esteve exposta ao agrotóxico? 1- Cabeça/face; 2- Braços; 3- Mãos 4- Abdômen; 5- Pernas/pés; 6- Pulmão e trato respiratório; 7- Trato digestivo; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	198	checkbox
199	Quanto tempo depois desse incidente/experiência o Sr.(a) se lavou/banhou? 1- Cerca de 30 minutos; 2- 30-59 minutos; 3- 1 a 3 horas ;4- 4 a 6 horas; 5- 7 a 9 horas; 6- Mais de 9 horas depois do incidente; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	199	radio
<b>Ocupação Atual</b>			
200	Em sua ocupação atual, utiliza equipamento de proteção individual (EPIs)? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	200	apenas para trabalhadores rurais
201	A empresa fornece? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	201	Se agricultura familiar, não abrir
202	Faz uso correto? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	202	
203	Quais desses equipamentos você utiliza? 1- Luvas; 2- Viseira/Óculos protetores; 3- Máscaras com filtro/Respirador; 4-Boné árabe/Chapéu; 5- Botas impermeáveis; 6- Avental; 7- Jaleco e calças (hidrorepelentes); 888- Não se aplica; 999- Ignorado	203	checkbox
204	Respeita o limite de 30 lavagens para o EPI (jaleco e calça)? 0- Não; 1- Sim; 888- Não se aplica; 999- Ignorado	204	
<b>Nas ocupações anteriores, caso fosse exposto a agrotóxico</b>			
205	Em sua ocupação anterior utilizava EPIs? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	205	Abrir somente se foi exposto no passado
206	A empresa fornecia? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	206	
207	Fez uso correto? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	207	

208	Quais desses equipamentos utilizava? 1- Luvas; 2- Viseira/Óculos protetores; 3- Máscaras com filtro/Respirador; 4- Boné árabe/Chapéu; 5- Botas impermeáveis; 6- Avental; 7- Jaleco e calças (hidrorepelentes); 88- Não se aplica; 99- Ignorado	208	
209	Respeitava o limite de 30 lavagens para o EPI (jaleco e calça)? 0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	209	até essa var apenas para rurais
Histórico de ocupações			
210	Em quantas ocupações anteriores trabalhou? 0 – 30 (abrir para 10 ocupações (em ordem cronológica)		
211	Você já trabalhou nessa atividade ou com essa substância diretamente? 1- Indústria de alumínio (metais); 2- Coqueria (carvão mineral); 3- Fundição de ferro e aço; 4- Indústria de borracha; 5- Indústria de móveis e marcenaria/ Carpintaria e marcenaria (poeira de madeira, solventes); 6- Indústria de refinaria de níquel; 7- Indústria de calçados e consertos de sapatos, Produção de produtos de couro (couro e solventes); 8- Limpeza de chaminé (hidrocarbonetos aromáticos); 9- Pintor (benzeno, solventes); 10- Salão de cabeleireiro ou barbeiro/ laboratórios (formaldeído, xilol); 11- Refinaria de petróleo; 12- Dedetizador, agente de controle de vetores (Inseticidas não arsenicais); 13- Lavagem a seco (produtos químicos); 14- Indústria de vidros planos e vidros especiais (sílica); 15- Indústria de celulose, papel e plástico	211	checkbox
212	Por quanto tempo trabalhou nessa função/ com essa substância? Em anos; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	212	replicar para cada substância
213	Por quanto tempo trabalhou nessa função/ com essa substância? Em meses; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	213	
214	Tempo total de exposição à substância: Em anos	214	calc
215	Hora de término da entrevista HH:MM	215	
216	Tempo de entrevista (em minutos)	216	Campo calculado

## APÊNDICE II – FICHA DE AVALIAÇÃO PARTICIPANTES CONSTRUÇÃO CIVIL E GRUPO CONTROLE

### AVALIAÇÃO DE DANOS GENOTÓXICOS EM TRABALHADORES DA CONSTRUÇÃO CIVIL EXPOSTOS A CARCINÓGENOS AMBIENTAIS E OCUPACIONAIS P.I. HENRIQUE CÉSAR SANTEJO SILVEIRA

1	Identificação	
2	Data da entrevista	DD/MM/AAAA
3	Início da entrevista	HORA:MINUTO
4	Término da entrevista	HORA:MINUTO
<b>INFORMAÇÕES GERAIS</b>		
5	Tipo de trabalhador	1- Administrativo; 2- Construção civil
6	Nome	
7	Data de nascimento	DD/MM/AAAA
8	Etnia	1- Branco; 2- Negro; 3- Pardo; 4- Índio; 5- Oriental; 6- Outros (descrever: _____)
9	Endereço atual (rua/av):	
10	Telefone	
11	Cidade de Residência	
12	Estado de Residência	
13	Há quanto tempo o Sr(a) mora nessa cidade?	ANOS
14	Se o Sr está vivendo há menos de 1 ano nessa cidade, onde o Sr (a) morava antes?	
15	Você estudou até que série ou ano	1- Analfabeto; 2- Ensino fundamental; 3- Ensino médio; 4- Superior incompleto; 5- Superior completo
<b>AOS EX – FUMANTES</b>		
16	Idade de início 1	
17	Idade que parou 1	
18	Nº por dia de cigarros 1	
19	Idade de início 2	
20	Idade que parou 2	
21	Nº por dia de cigarros 2	
22	Idade de início 3	
23	Idade que parou 3	
24	Nº por dia de cigarros 3	
25	O senhor já fumou maconha?	
26	Idade de início	
27	Idade que parou	
28	Nº de vezes por semana	
<b>FUMANTES PASSIVOS</b>		
29	O Sr convive com alguém que fuma?	0- Não; 1- Sim
30	Se sim, por quanto tempo permanece perto desta pessoa?	1- Menos de 1 hora; 2- Até 2 horas; 3- Mais de 2 horas por dia
31	O senhor trabalhou em um lugar fechado onde as pessoas fumassem?	0- Não; 1- Sim
32	Descreva os períodos durante os quais o senhor trabalhou com fumantes:	
33	Sua idade quando iniciou a exposição	
34	Sua idade quando parou a exposição	
35	Nº de horas/ dia que estava exposto	
36	Nível de fumaça	1- Muita; 2- Pouca; 3- Não lembra
<b>HÁBITOS DE BEBIDA</b>		
37	O Sr já bebeu bebidas de álcool pelo menos 1 vez por mês?	0- Nunca; 1- Sim, ainda bebe (se parou nos últimos 12 meses); 3- Só no passado
38	<b>Cerveja</b>	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
39	Idade de início	ANOS
40	Idade que parou	ANOS
41	Unidade	1- Copo pequeno – 50 ml; 2- Copo médio – 100 ml; 3- Copo grande – 250 ml½ ou garrafa pequena – 330 ml; 4- Garrafa – 700-750 ml; 5- Garrafa – 1 L
42	Quantas unidades consome	
43	Por	1- Dia; 2- Semana; 3- Mês

44	<b>Vinho</b>	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
45	Idade de início	ANOS	
46	Idade que parou	ANOS	
47	Unidade	1- Copo pequeno – 50 ml; 2- Copo médio – 100 ml; 3- Copo grande – 250 ml½ ou garrafa pequena – 330 ml; 4- Garrafa – 700-750 ml; 5- Garrafa – 1 L	
48	Quantas unidades consome		
49	Por	1- Dia; 2- Semana; 3- Mês	
50	<b>Cachaça</b>	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
51	Idade de início	ANOS	
52	Idade que parou	ANOS	
53	Unidade	1- Copo pequeno – 50 ml; 2- Copo médio – 100 ml; 3- Copo grande – 250 ml½ ou garrafa pequena – 330 ml; 4- Garrafa – 700-750 ml; 5- Garrafa – 1 L	
54	Quantas unidades consome		
55	Por	1- Dia; 2- Semana; 3- Mês	
<b>HÁBITOS SEXUAIS</b>			
56	Das parceiras com que se relacionou, quantas eram prostitutas? Se difícil responder:	0- Nenhuma; 1- de 2 a 5; 2- de 6 a 10; 3- de 11 a 20; 4- de 21 a 50; 5- de 51 a 100; 6- mais de 100	
57	O Sr já fez sexo colocando sua boca nos genitais da parceira?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
58	Com que frequência?	1- Ocasionalmente; 2- Frequentemente; 3- Quase sempre	
<b>HISTÓRICO DE DOENÇAS</b>			
59	O Sr já teve verrugas na pele?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
60	Local das verrugas: Mãos	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
61	Local das verrugas: Pés	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
62	Local das verrugas: Cabeça e Pescoço	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
63	Local das verrugas: Outros locais	ESPECIFIQUE	
64	O Sr já teve candidíase? (sapinho)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
65	Local da candidíase: Genital	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
66	Local da candidíase: Boca	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
67	Local da candidíase: Outros locais	ESPECIFIQUE	
68	O senhor já teve herpes (lesão de cobreiro)?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
69	Local da herpes: Lábio	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
70	Local da herpes: Genital	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
71	Local da herpes: Outros lugares	ESPECIFIQUE	
72	O senhor já teve alguma doença sexualmente transmissível?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
73	Qual DST: Sífilis	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
74	Qual DST: Gonorréia	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
75	Qual DST: Condiloma (verrugas)	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
76	Qual DST: HIV	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
<b>COMORBIDADES</b>			
77	Asma / bronquite	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
78	Usa alguma medicação para Asma / Bronquite?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
79	Outras Doenças Respiratórias	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
80	Usa alguma medicação para doença respiratória?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	

81	Doença Cardiovascular	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
82	Usa alguma medicação para doença cardiorespiratória?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
83	Pressão Alta	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
84	Usa alguma medicação para pressão alta?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
85	Diabetes	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
86	Usa alguma medicação para diabetes?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
87	Hepatite	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
88	Usa alguma medicação para hepatite?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
89	Tuberculose	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
90	Usa alguma medicação para tuberculose?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
91	Esquistossomose	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
92	Usa alguma medicação para esquistossomose?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
93	Outras	ESPECIFIQUE	
<b>ALGUÉM NA SUA FAMÍLIA TEM OU TEVE?</b>			
94	Asma	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
95	Enfisema ou bronquite crônica	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
96	Infarto do Coração	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
97	AVC	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
98	Pressão alta	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
99	Outra doença que julgue importante	ESPECIFIQUE	
<b>QUESTÕES SOBRE SINTOMAS DE ASMA (ECHR) E BRONQUITE CRÔNICA</b> Para responder a estas questões se o paciente não estiver com certeza, assinale "não"			
100	Chiado no peito	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
101	Tosse seca	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
102	Tosse com catarro	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
103	Falta de ar em repouso	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
104	Falta de ar quando faz esforço	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
105	Espirro frequente	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
106	Coceira no nariz ou na garganta	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
107	Mudança na voz	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
108	Tontura (frequente)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
109	Dor de cabeça (frequente)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
110	Câimbra (frequente)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
111	Dores nas costas	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
112	Dores nos MMSS	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
113	Dores nos MMII	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	

HISTÓRIA DE CÂNCER NA FAMÍLIA		
114	Câncer em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
115	Câncer de <b>mama</b> em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
116	Câncer de <b>endométrio</b> em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
117	Câncer <b>cólon-retal</b> em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
118	Câncer de <b>ovário</b> em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
119	Câncer <b>gástrico</b> em familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
120	Outros tipos de câncer de familiares de 1º Grau (Pais, Irmãos e Filhos)	ESPECIFIQUE
121	Câncer em familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
122	Câncer de <b>mama</b> em familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
123	Câncer de <b>endométrio</b> em familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
124	Câncer <b>cólon-retal</b> em familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
125	Câncer de <b>ovário</b> em familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
126	Câncer <b>gástrico</b> em familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
127	Outros tipos de câncer de familiares de 2º Grau (Avós e Tios)	ESPECIFIQUE
128	Câncer em familiares de 3º Grau (Primos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
129	Câncer de <b>mama</b> em familiares de 3º Grau (Primos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
130	Câncer de <b>endométrio</b> em familiares de 3º Grau (Primos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
131	Câncer <b>cólon-retal</b> em familiares de 3º Grau (Primos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
132	Câncer de <b>ovário</b> em familiares de 3º Grau (Primos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
133	Câncer <b>gástrico</b> em familiares de 3º Grau (Primos)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
134	Outros tipos de câncer de familiares de 3º Grau (Primos)	ESPECIFIQUE
SAÚDE BUCAL		
135	Com que frequência o Sr. escova os dentes? 0- Nunca escovei os dentes; 1- Menos de uma vez por semana; 2- 1-2 vezes por semana; 3- Um dia sim outro não; 4- 1 vez por dia; 5- 2 vezes ou mais por dia; 6- 3 vezes por dia; 7- mais de 3 vezes por dia; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
136	O que o Sr. usa para fazer a higiene de sua boca? 1- Escova de dente; 2- Fio dental; 3- Dedo; 4- Palito; 5- Outros; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
137	O que o Sr. usa junto com a escova dental? 0- Nada; 1- Pasta dental; 2- Outros; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
138	Suas gengivas sangram quando o Sr. escova os dentes ou passa o fio dental? 0- Não; 1- As vezes; 2- Sempre ou quase sempre; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
139	Com que frequência o Sr. faz bochechos com antissépticos? 0- Nunca; 1- Menos de uma vez por semana; 2- 1-2 vezes por semana; 3- Um dia sim, outro não; 4- Uma vez ao dia; 5- 2 vezes ao dia ou mais; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	
140	O Sr. usa dentadura ou ponte?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
141	É dentadura total (superior ou inferior)?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
142	Com que idade o Sr. começou a usar dentadura?	ANOS
143	Há quanto tempo esta com a atual dentadura?	1- Até 4 anos; 2- Cinco anos; 3- Até 10 anos; 4- Mais de 10 anos
144	A sua dentadura ou ponte machuca?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
145	Se sim, a quanto tempo?	ESPECIFIQUE
146	Durante os últimos 20 anos, com que frequência o Sr. tem ido ao dentista?	0- Nunca 1- Todo ano; 2- A cada 2-5 anos; 3- Mais de 5 anos
147	O Sr. já fez alguma biopsia em sua boca ou laringe?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
148	De que tipo?	1- Boca; 2- Laringe; 88- Não se aplica; 99- Ignorado
149	Com que idade?	ANOS
150	O que mostrou?	1- Normal; 2- Anormal; 3- Câncer; 4- Não sabe
151	O Sr. tem uma escova de dentes só para você?	1- Sim; 2- Não, compartilho minha escova com outras pessoas
152	Com que frequência o senhor troca a sua escova de dentes por uma nova?	1- A cada mês; 2- Até 3 meses; 3- Até 6 meses; 4- Entre 6 meses e um ano; 5- Mais de um ano; 6- Nunca trocou
153	Qual o grau de dificuldade que o senhor tem para se alimentar por causa de problemas com seus dentes ou dentadura?	1- Nenhum; 2- Leve; 3- Intenso; 4- Muito intenso
SOMENTE PARA OS TRABALHADORES DA CONSTRUÇÃO CIVIL		
154	Trabalha na construção há quantos anos?	ANOS
155	Qual ano que começou pela primeira vez	
156	Você já teve alguma doença relacionada ao trabalho?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado
157	Se sim qual(is)	ESPECIFIQUE
158	O sr já realizou outros trabalho? Por quanto tempo?	ANOS
159	Quantas horas correspondem a sua jornada de trabalho diária?	HORAS
160	Quantas horas correspondem a sua jornada de trabalho aos sábados?	HORAS

PARA O GRUPO CONTROLE		
161	Setor onde trabalha	
162	Função na empresa (cargo)	
163	Trabalha na atual empresa desde (mês e ano que começou a trabalhar)	
164	Tem algum produto, substância química, vapor, gás ou poeira no trabalho que você acha que lhe faz mal? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
165	Jornada semanal de trabalho	
166	Você já teve alguma doença relacionada ao trabalho 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
167	Antes de trabalhar na atual empresa, trabalhava em qual função? 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
168	Por quanto tempo trabalhava na função anterior ANOS	
Você já trabalhou em alguma empresa ou atividade onde tinha risco de inalação de poeiras		
169	Pedreiras, fundições, perfuração de poços, cerâmica, mineração ou outras 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
170	Pedreiras, fundições, perfuração de poços, cerâmica, mineração ou outras – Por quanto tempo ANOS	
171	Fumaça de lenha, carvão, motores a diesel, outras 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
172	Fumaça de lenha, carvão, motores a diesel, outras – Por quanto tempo ANOS	
173	Gases, vapores e fumos: posto de gasolina, solda, fabricação de plásticos ou produtos de borracha, refinarias, outras 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
174	Gases, vapores e fumos: posto de gasolina, solda, fabricação de plásticos ou produtos de borracha, refinarias, outras – Por quanto tempo ANOS	
175	Outras atividades onde tinha risco de inalação de poeiras 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	
176	Outras atividades onde tinha risco de inalação de poeiras – Por quanto tempo ANOS	

## APÊNDICE III - TCLE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

#### TÍTULO DO ESTUDO:

“Avaliação de risco e conscientização do câncer ocupacional em trabalhadores rurais na região de Barretos e de outros Estados Brasileiros”

#### PESQUISADORES:

**Henrique César Santejo Silveira (Responsável)** - Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos / Fundação Pio XII – Barretos, Brasil.

Rui Manuel Reis - Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos / Fundação Pio XII – Barretos, Brasil.

Jose Humberto Tavares Fregnani - Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos / Fundação Pio XII – Barretos, Brasil.

Cássia Rubia Bernardo - Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos / Fundação Pio XII – Barretos, Brasil.

Julia Maria Saraiva Duarte - Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos / Fundação Pio XII – Barretos, Brasil.

Rhafaella Lima Causin - Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos / Fundação Pio XII – Barretos, Brasil.

#### O QUE É ESTE DOCUMENTO?

Você está sendo convidado (a) a participar deste estudo que será realizado pelo Hospital de Câncer de Barretos - Fundação Pio XII e também pela Universidade de Cuiabá. Esse documento é chamado de “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” e explica este estudo e qual será a sua participação, caso você aceite o convite. O documento também fala os possíveis riscos e benefícios se você quiser participar, além de dizer os seus direitos como participante de pesquisa. Após analisar as informações do Termo de Consentimento e esclarecer todas as suas dúvidas, você terá o conhecimento necessário para tomar uma decisão sobre sua

participação ou não no estudo. Não tenha pressa para decidir. Se for preciso, leve para a casa e leia o documento com os seus familiares ou outras pessoas que são de sua confiança.

### **POR QUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO FEITO?**

Nos dias atuais, vários trabalhadores estão expostos em seu ambiente de trabalho a diversos fatores e agentes prejudiciais à saúde. Com isso, torna-se necessário que esses trabalhadores participem de atividades relacionadas à educação preventiva a doenças, sendo assim, este projeto contará com uma responsabilidade social junto às comunidades participantes. Ainda, a criação de um núcleo de profissionais voltados à prevenção do câncer ocupacional no Hospital de Câncer de Barretos, pode possibilitar a criação de um registro de câncer ocupacional que promoverá uma nova fronteira no estudo desta doença relacionada à ocupação no trabalho, o que muito auxiliará a saúde brasileira, beneficiando políticas públicas de saúde.

### **O QUE ESTE ESTUDO QUER SABER?**

Nosso estudo pretende avaliar e conscientizar os trabalhadores rurais na região de Barretos e de outros Estados Brasileiros sobre o câncer no ambiente de trabalho, para isso iremos realizar um programa educacional de prevenção ao câncer junto às comunidades participantes. Além da realização de um vídeo educativo para os trabalhadores sobre o esclarecimento do câncer ocupacional, a importância do uso de EPI (Equipamento de Proteção Individual) para prevenção de câncer e o limite máximo de resíduos (agrotóxicos) no qual o ser humano pode estar exposto. Posteriormente, aplicaremos um questionário para os trabalhadores a fim de, aumentar os conhecimentos referentes a possíveis doenças ocupacionais. Vamos realizar a coleta de amostras biológicas (sangue, urina e amostra bucal) para análises em estudos futuras. Estas amostras serão estocadas no Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos, por isso, pedimos que você também assine outro Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que é o TCLE do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos. Neste projeto serão incluídos dois grupos de estudo, os trabalhadores rurais expostos aos agrotóxicos e um grupo controle que esteja não exposto aos agrotóxicos.

### **O QUE ACONTECERÁ COMIGO DURANTE O ESTUDO?**

Todos os participantes (ou o responsável legal) irão assinar este termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O participante ou acompanhante responderá um questionário sobre os hábitos de vida. Serão formados vários grupos para a realização das atividades. Nos cursos estaremos trabalhando com aulas teórico-práticas abordando os seguintes temas: A importância da utilização de EPIs (Equipamento de Proteção Individual); Exposição Ocupacional e a relação com o Câncer; Principais agentes químicos e físicos encontrados no meio rural, importância e agravos à saúde; Prevenção e sua importância. Os trabalhadores serão submetidos a um questionário simples, que será desenvolvido no propósito para medir o conhecimento adquirido com o vídeo que será apresentado no curso. Além disso, serão distribuídos folhetos para que os trabalhadores possam distribuir em suas casas, para que seus parentes compareçam ao Departamento de Prevenção do Hospital de Câncer de Barretos a fim de participar dos programas de Prevenção do Hospital. Será coletado sangue da veia, urina e amostra bucal de cada um dos sujeitos envolvidos na pesquisa, que possibilitará estudos futuros.

#### **HAVERÁ ALGUM RISCO OU DESCONFORTO SE EU PARTICIPAR DO ESTUDO?**

Durante a aplicação do questionário o participante pode se sentir constrangido por alguma pergunta. Se isso ocorrer, o participante possui a total liberdade de não responder tal questão ou até de interromper o questionário. Após a aplicação do questionário, serão colhidas as amostras de sangue venoso. A coleta de sangue consiste em retirar 6 a 8 ml (aproximadamente 2 colheres das de sopa) da veia, através de uma agulha estéril. Você provavelmente sentirá a dor da punção (“picada da agulha”). Após a coleta poderá sair um pouco de sangue no local da punção (“picada da agulha”), podendo ficar roxo por alguns dias. Se isso acontecer, provavelmente voltará ao normal dentro de 15 a 20 dias. Em alguns casos pode acontecer de formar um “calombo” (hematoma) no local da punção (picada), o que também voltará ao normal dentro de 15 a 20 dias. Na coleta de urina será fornecido a você um frasco primeiramente você será instruído para desprezar o primeiro jato coletando o jato intermediário e o único incômodo pode ser a falta de vontade. Para a coleta da amostra bucal será utilizado um coletor que vai raspar a sua bochecha e que nenhuma dor ou desconforto será causado. O projeto é de baixo risco para os participantes de pesquisa. Porém, ocasionalmente, pode ocorrer a quebra de sigilo acidental.

**HAVERÁ ALGUM BENEFÍCIO PARA MIM SE EU PARTICIPAR DO ESTUDO?**

Nesse estudo, não haverá benefício direto aos participantes e a participação é por livre e espontânea vontade. Mas, ao final do estudo, as informações que ele gerar, poderá trazer benefícios futuros para outras pessoas.

**QUAIS SÃO AS OUTRAS OPÇÕES SE EU NÃO PARTICIPAR DO ESTUDO?**

A sua participação neste estudo é voluntária e não é obrigatória. Você pode aceitar participar do estudo e depois desistir a qualquer momento. Isto não implicará em nenhum prejuízo em suas atividades profissionais ou familiares. Você também poderá pedir a qualquer momento que as suas informações sejam excluídas completamente deste estudo e que elas não sejam usadas para mais nada.

Com relação ao questionário, asseguramos ao indivíduo o direito de recusar-se a responder as perguntas que ocasionem constrangimentos de alguma natureza.

**QUAIS SÃO OS MEUS DIREITOS SE EU QUISER PARTICIPAR DO ESTUDO?**

Você tem direito a:

- 1) Receber as informações do estudo de forma clara;
- 2) Ter oportunidade de esclarecer todas as suas dúvidas;
- 3) Ter o tempo que for necessário para decidir se quer ou não participar do estudo;
- 4) Ter liberdade para recusar a participação no estudo, e isto não trará qualquer de problema para você;
- 5) Ter liberdade para desistir e se retirar do estudo a qualquer momento;
- 6) Ter assistência a tudo o que for necessário se ocorrer algum dano por causa do estudo, de forma gratuita, pelo tempo que for preciso;
- 7) Ter direito a reclamar indenização se ocorrer algum dano por causa do estudo;
- 8) Ser ressarcido pelos gastos que você e seu acompanhante tiverem por causa da participação na pesquisa, como por exemplo, transporte e alimentação;
- 9) Ter acesso aos resultados dos exames realizados durante o estudo;
- 10) Ter respeitado o seu anonimato (confidencialidade);
- 11) Ter respeitada a sua vida privada (privacidade);
- 12) Receber uma via deste documento, assinada e rubricada em todas as páginas por você e pelo pesquisador;

- 13) Ter liberdade para não responder perguntas que incomodem você;
- 14) Ter liberdade para retirar o consentimento para que usem ou guardem o guarda material biológico que foi removido de você;

### **O QUE ACONTECERÁ COM O MATERIAL QUE FOR COLETADO DE MIM?**

Inicialmente, os 8ml de sangue venoso serão processados e armazenados à -20°C por tempo indeterminado no Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos para análises posteriores que serão delimitadas pelos pesquisadores do projeto.

No final do estudo, se sobrar algum material, ele será armazenado no Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos, conforme Termo de Consentimento específico. Se tiver dúvidas sobre este Biobanco, pergunte ao pesquisador do estudo ou, então, entre em contato com o setor: (17) 3321-6600, ramal: 6963.

### **SE EU TIVER DÚVIDAS SOBRE OS MEUS DIREITOS OU QUISER FAZER UMA RECLAMAÇÃO, COM QUEM EU FALO?**

Fale diretamente com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos. Este comitê é formado por pessoas que analisam a parte ética dos estudos e autorizam ele acontecer ou não. Você pode entrar em contato com este Comitê por telefone (tel: (17) 3321-0347 ou (17) 3321-6600 - ramal 6647), e-mail ([cep@hcancerbarretos.com.br](mailto:cep@hcancerbarretos.com.br)) carta (Rua Antenor Duarte Vilela, 1331, Instituto de Ensino e Pesquisa, 14784-057) ou pessoalmente. O horário de atendimento é de 2ª a 5ª feira, das 8h00 às 17h00, e 6ª feira, da 8h00 às 16h00. O horário de almoço é de 12h00 às 13h00.

### **SE EU TIVER DÚVIDAS SOBRE O ESTUDO, COM QUEM EU FALO?**

Fale diretamente com o pesquisador responsável. As formas de contato estão abaixo:

Nome do pesquisador: Dr. Henrique César Santejo Silveira.

Formas de contato: (17) 3321-6600, ramal 7057, e-mail ([henriquecssilveira@gmail.com](mailto:henriquecssilveira@gmail.com)) carta (Rua Antenor Duarte Vilela, 1331, Instituto de Ensino e Pesquisa, 14784-057) ou pessoalmente.

## DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu entendi o estudo. Tive a oportunidade de ler o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou alguém leu para mim. Tive o tempo necessário para pensar, fazer perguntas e falar a respeito do estudo com outras pessoas. Autorizo a minha participação na pesquisa. Ao assinar este Termo de Consentimento, não abro mão de nenhum dos meus direitos. Este documento será assinado por mim e pelo pesquisador, sendo todas as páginas rubricadas por nós dois. Uma via ficará comigo, e outra com o pesquisador.

## CAMPO DE ASSINATURAS

\_\_\_\_\_  
 Nome por extenso do participante de pesquisa ou do representante legal

\_\_\_\_\_  
 Data

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

\_\_\_\_\_  
 Nome por extenso do pesquisador

\_\_\_\_\_  
 Data

\_\_\_\_\_  
 Assinatura

\_\_\_\_\_  
 Nome por extenso da testemunha imparcial (para casos de analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência visual)

\_\_\_\_\_  
 Data

\_\_\_\_\_  
 Assinatura



