

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



## **PARECER TÉCNICO**

# **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS SOBRE O SISTEMA REPRODUTIVO, HORMONAL E CÂNCER PARA SERES HUMANOS APÓS O USO DO HERBICIDA 2,4-D**

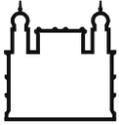
**Karen Friedrich**

**Departamento de Farmacologia e Toxicologia**

**Núcleo Técnico de Saúde e Ambiente**

**INCQS/FIOCRUZ**

**Mairo/2014**



Ministério da Saúde

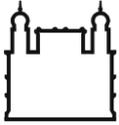
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



## SUMÁRIO

<b>1. Modos de exposição ao 2,4-D</b>	3
<b>2. Aspectos relevantes sobre a toxicocinética do 2,4-D</b>	5
<i>Conclusões sobre aspectos da toxicocinética do 2,4-D</i>	8
<b>3. Categoria dos efeitos sobre a saúde</b>	9
<b>4. Toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento</b>	11
<b>4.1 Toxicidade reprodutiva</b>	11
<i>Estudos com seres humanos</i>	12
<b>4.2 Toxicidade do desenvolvimento</b>	12
<i>Efeitos decorrentes da exposição pré-natal</i>	12
<i>Estudos com seres humanos</i>	14
<i>Efeitos decorrentes da exposição pós-natal</i>	15
<i>Neurotoxicidade do desenvolvimento</i>	16
<i>Estudos epidemiológicos</i>	16
<b>4.3 Conclusões e considerações sobre toxicidade materna, teratogênese e critérios para proibição</b>	16
<b>5. Toxicidade sobre o sistema hormonal ou desregulação endócrina</b>	19
<i>Estudos com seres humanos</i>	20
<i>Conclusões sobre efeitos do sistema endócrino do 2,4-D</i>	21
<b>6. Mutagênese e câncer</b>	23
<b>7. Mecanismo de ação tóxica do 2,4-D</b>	27
<b>8. Considerações gerais sobre avaliação toxicológica do 2,4-D e o processo de avaliação toxicológica para o registro de agrotóxicos</b>	28
<b>9. Conclusões</b>	32
<b>10. Referências</b>	33



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



## **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TÓXICOS SOBRE O SISTEMA REPRODUTIVO, HORMONAL E CÂNCER PARA SERES HUMANOS APÓS O USO DO HERBICIDA 2,4-D**

### **1. Modos de exposição ao 2,4-D**

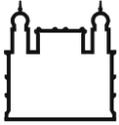
Os modos de utilização indicados na monografia do ingrediente ativo 2,4-D permitem que ele possa estar presente em diversas matrizes como ar, água, solo, contaminando diretamente as pessoas que residem próximas a áreas onde ele é pulverizado. O tipo de pulverização autorizada não está descrita na sua monografia, disponibilizada no sítio eletrônico da ANVISA (ANVISA, 2014). O uso preconizado é como herbicida, podendo ser aplicado nas fases de pré- e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de arroz, aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, pastagem, soja, sorgo e trigo (ANVISA, 2014).

Desse modo, esse agrotóxico contamina diretamente as lavouras e, conseqüentemente, produtos derivados dessas culturas, incluindo aqueles que passam por algum tipo de processamento. Além disso o 2,4-D pode contaminar solo, ar e água, que atingem diretamente o homem e espécies de animais em contato com essas matrizes, mas também outros alimentos cuja cadeia produtiva esteja contaminada por esse herbicida. Deve-se destacar que, como seu uso é preconizado em pastagens, pode contaminar a carne e o leite e outros derivados de animais que sejam criados nesses locais.

Apesar disso, não foram encontrados resultados de monitoramento do 2,4-D nesses alimentos (i.e. alimentos processados, de origem animal ou vegetal) realizados no Brasil que possam dar um panorama do perfil de contaminação dos alimentos consumidos para esse agrotóxico.

Todavia, alguns estudos internacionais tem mostrado que seres humanos em diferentes faixas etárias, incluindo crianças, e através de diversos modos de exposição (ambiental, residencial, ocupacional, dietética) apresentam níveis detectáveis desse agrotóxico no organismo (MORGAN et al, 2008; WILSON et al, 2010).

Além disso, deve-se destacar que a exposição de gestantes e lactantes, mesmo que não sejam trabalhadoras agrícolas, podem se expor ao 2,4-D, ampliando os grupos de pessoas expostas. Como exemplo, em um estudo realizado na Polônia, esposas de fazendeiros apresentaram níveis detectáveis de 2,4-D na urina (JUREWICZ et al, 2012). As mulheres não estavam envolvidas na atividade de pulverização de agrotóxicos, mas podem ter se contaminado através do contato com superfícies ou



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**

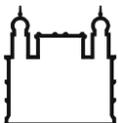


roupas contaminadas dos maridos e pelo ar contaminado através da aplicação de agrotóxicos próxima a residência.

Com isso, mesmo que não existam estudos realizados com produtos consumidos no mercado interno ou com pessoas expostas no território brasileiro, esses estudos internacionais demonstram que a população brasileira, onde o consumo de agrotóxicos está entre os maiores do mundo, está sob elevado de risco de manifestar todos os efeitos tóxicos decorrentes do uso do 2,4-D descritos na literatura científica.

Para a avaliação da segurança ou do risco da exposição ao 2,4-D dois importantes aspectos devem ser levados em consideração: a via de exposição e o momento da vida em que o contato com o agrotóxico ocorre.

Quanto a via de exposição, as fontes de contaminação citadas anteriormente, permitem concluir que o 2,4-D pode ser absorvido, ou seja, penetrar nos organismos das pessoas através da respiração (via inalatória), da pele (via dérmica), da ingestão de água ou de alimentos contaminados, incluindo o leite materno (via oral), ou através da placenta. Além disso, as pessoas podem ser expostas ao 2,4-D em diferentes momentos da vida, como intra-utero, lactação, infância, adolescência, fase adulta e senescência. Esses dois aspectos devem ser avaliados em conjunto, pois os efeitos tóxicos podem ter tipologia ou magnitudes distintas, dependendo da via e da idade em que a exposição ocorra.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



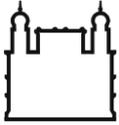
## **2. Aspectos relevantes sobre a toxicocinética do 2,4-D**

A toxicocinética é definida como o estudo da absorção (entrada no organismo), distribuição por órgãos e tecidos, excreção e metabolismo (transformação) de substâncias. Esse tipo de estudo permite compreender os mecanismos de ação tóxica de uma substância; os órgãos/tecidos para os quais é distribuído, como o cérebro, a placenta, ou mesmo o leite materno e o sêmen; os órgãos/tecidos nos quais se acumula; dentre outras importantes informações como as enzimas que são responsáveis pelo seu metabolismo e, principalmente, quais os produtos que são formados a partir dessa transformação e que, por muitas vezes podem até ser mais tóxicos que a própria substância (agrotóxico) a qual a pessoa esteve exposta.

Em geral, a exposição a agrotóxicos ocorre por diferentes vias. As vias inalatória (através da respiração) e dérmica (pele) são mais comuns em pessoas que trabalham com agrotóxicos, ou em pessoas que estejam próximas de regiões onde ocorre pulverização do produto (costal, tratorizada, aérea) e/ou que tenham contato com ar, água, roupas e objetos contaminados. Outra via importante é a via oral, que, além dos grupos citados anteriormente, atinge todos aqueles que ingerem água e alimentos contaminados (frutas, legumes, verduras, carnes, leite, ovos, leite materno, produtos industrializados etc). Além destas, o embrião ou feto em formação, através da placenta, pode entrar em contato com agrotóxicos que a mãe tenha sido exposta, antes ou durante a gestação.

Dependendo da via de absorção (oral, dérmica, inalatória) o agrotóxico percorre um “caminho” dentro do organismo, podendo ser metabolizado (transformado) de diferentes maneiras, em diferentes velocidades, formando, inclusive, produtos (metabólitos) diferentes que podem ser mais ou menos danosos dependendo da quantidade; da idade da pessoa; da presença de outros contaminantes, incluindo outros agrotóxicos; de características genéticas (hereditárias); ou de características intrínsecas aos territórios onde residem, como fatores socioambientais que podem aumentar ou gerar vulnerabilidades (que por serem impostas a esses grupos passam então a ser chamadas vulnerações). *Nesse sentido, deve-se destacar que os estudos apresentados pela indústria no momento do registro não estudam em profundidade todos esses aspectos e que, portanto, são insuficientes para avaliar a segurança de uso desses produtos para as pessoas expostas e que, portanto, agrotóxicos que já apresentam indícios de efeitos tóxicos críticos, como o 2,4-D devem ter seu uso proibido no país.*

A excreção do 2,4-D ocorre principalmente através da urina. Além dos efeitos tóxicos, como mencionado anteriormente, a depuração (ou seja, “saída”) do plasma sanguíneo depende de vários



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



fatores, como: a dose, ou seja, a quantidade que foi absorvida pelo organismo; as características próprias de cada indivíduo; a presença ou ausência de outras substâncias no organismo que possam influenciar o metabolismo (transformação) e a eliminação (excreção) do 2,4-D, dentre outros.

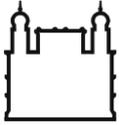
A excreção após a exposição a uma única dose oral de 2,4-D ocorre em aproximadamente 24 horas. Todavia, para exposições repetidas e por outras vias de exposição esse tempo pode variar (IPCS, 1984). A exposição dérmica ao 2,4-D pode levar a uma eliminação mais lenta pela urina que após a absorção por via intravenosa ou oral, como mostrado em estudos com seres humanos, onde a eliminação do plasma deu-se somente após uma semana (FELDMANN; MAIBACH, 1974 *apud* IPCS, 1984; SAUERHOFF et al., 1977 *apud* IPCS, 1984; LEVY et al., 1982 *apud* IPCS, 1984; LENG et al., 1982 *apud* IPCS, 1984). Deve-se ressaltar que dependendo da formulação do produto, os solventes, os surfactantes e outras substâncias presentes podem interferir na absorção do 2,4-D e, conseqüentemente no tempo de eliminação do organismo.

Ainda assim, deve-se destacar que *mesmo que uma substância seja excretada rapidamente*, o período em que percorreu o organismo pode ter sido suficiente para causar danos em moléculas, células, tecidos, alterar funções fisiológicas, fundamentais para a manutenção da vida, que podem ser permanentes. Mesmo em curto período de tempo podem ser capazes de serem transmitidos para as futuras gerações, como através de alterações no material genético das células germinativas, ou seja, aquelas que darão origem a um novo indivíduo após a fecundação.

Em um estudo com seres humanos o 2,4-D foi encontrado no sêmen de fazendeiros do Canadá e de homens de áreas urbanas nos Estados Unidos (ARBUCKLE et al, 1999; SWAN et al, 2003). Esse fato pode representar maior risco de alterações durante a fertilização, mas também pode causar danos para o feto em formação (ARBUCKLE, 1999).

O 2,4-D é capaz de atravessar a barreira transplacentária, podendo assim, chegar ao embrião ou ao feto e, nestes, causar danos irreversíveis como alteração do desenvolvimento normal do indivíduo ou abortos e partos prematuros.

Estudos com diferentes espécies demonstraram a capacidade do 2,4-D atravessar a placenta em camundongos e ratos (LINDQUIST; ULLBERG, 1971; FEDOROVA; BELOVA, 1974; ANTONENKO, 1977 *apud* IPCS, 1984). Outros estudos publicados anos depois corroboram esses achados, mostrando que após atravessar a barreira transplacentária, o 2,4-D acumula nos tecidos dos fetos, incluindo o cérebro, como mostrado em camundongos e coelhos (KIM; KEIZER; PRITCHARD,



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



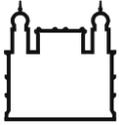
1988; SANDBERG et al, 1996). Em um estudo para avaliar a distribuição do 2,4-D, galinhas apresentaram resíduos no músculo, fígado e ovos (BARNEKOW et al, 2000). Em cabras, avaliadas pelos mesmos autores, o 2,4-D foi encontrado no leite, fígado e tecido adiposo e muscular (BARNEKOW et al, 2000 ).

Outro aspecto importante é a comprovação da distribuição do 2,4-D também para o leite materno (STÜRTZ; EVANGELISTA DE DUFFARD; DUFFARD, 2000; STURTZ et al, 2006; STURTZ et al, 2010). Em alguns estudos o 2,4-D foi encontrado no estômago, e outros órgãos dos filhotes, como cérebro, sangue e rins, que tiveram contato com esse herbicida apenas através do leite materno. Mesmo após o fim da exposição da mãe ao 2,4-D ter sido interrompida, o herbicida continuou a ser passado para os filhotes através da lactação por, pelo menos, uma semana (STÜRTZ; EVANGELISTA DE DUFFARD; DUFFARD, 2000).

Além disso, foi demonstrado que componentes do leite materno, como ácidos graxos poli-insaturados estavam diminuídos em decorrência da exposição das mães ao 2,4-D. Nesses casos, além dos efeitos danosos que podem ser causados nos filhos por esse agrotóxico, a alimentação com o leite materno com composição alterada, pode levar a um estado de desnutrição que pode debilitar ainda mais esses indivíduos no início de sua vida (STURTZ et al, 2006). A redução desses componentes pode levar a diversos distúrbios, como alterações de comportamento e aprendizado e o desenvolvimento do cérebro.

Deve-se destacar que os efeitos dos agrotóxicos na composição do leite materno, ou mesmo a detecção em algumas amostras biológicas como o sêmen que usualmente não são avaliados nos testes convencionais apresentados pela indústria no momento do registro demonstram a importância dos estudos realizados por grupos de pesquisa independentes.

Estudos com ratos, camundongos e coelhos mostraram que o 2,4-D também é capaz de atingir o cérebro (ELO; YLITALO, 1977; ELO; YLITALO, 1979; KIM; KEIZER; PRITCHARD, 1988). Mesmo que em pequenas quantidades, esses resultados são preocupantes, uma vez que o 2,4-D pode causar danos sobre o sistema nervoso como alterações motoras e cognitivas, que repercutem na locomoção, no aprendizado, na memória e no raciocínio, dentre outras funções, como será visto adiante no item *Toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento*.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**

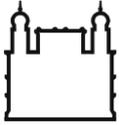


### ***Conclusões sobre aspectos da toxicocinética do 2,4-D***

Todos esses estudos revelam que o 2,4-D pode ser absorvido pelo organismo humano pelas vias oral, inalatória e dérmica por meio do contato com água, ar, alimentos ou ambientes contaminados, mas também através da gestação ou da amamentação. Além da exposição pela manipulação, pulverização, contato com alimentos ou ambientes contaminados, que pode ocorrer com crianças, adolescentes, adultos e idosos, *a exposição através da gestação e da amamentação permite que indivíduos em períodos muito importantes da sua formação sejam impactados pelos danos do 2,4-D de modo irreversível.*

Por outro lado, as passagens pela placenta e para o leite materno são extremamente preocupantes, uma vez que a mãe contaminada com o agrotóxico, mesmo que tenha conhecimento desse fato, não pode interromper a transmissão desse contaminante para o filho durante a gravidez. O leite materno, por sua vez, é recomendado como o alimento mais importante durante os primeiros meses de vida e a exposição da mulher aos agrotóxicos passa a ser uma ameaça a essa importante fonte nutricional, mas também a essa insubstituível fase da relação mãe e filho que pode se refletir na formação física e psicossocial do indivíduo.

Como consequência, a exposição a contaminantes químicos durante a gestação e a lactação é considerada crítica para o desenvolvimento e maturação de todas as funções fisiológicas, em especial o sistema nervoso, imunológico e hormonal, que são alvos comprovados da toxicidade do 2,4-D, como será visto a seguir.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



### 3. Categoria dos efeitos sobre a saúde

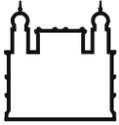
Os efeitos decorrentes da exposição aos agrotóxicos podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com a frequência da exposição. A exposição única, em geral a quantidades bem elevadas, pode causar efeitos classificados como agudos e que se manifestam, quase sempre, nas primeiras 24 horas depois. Em geral, acidentes, tentativas de suicídio e exposição através da pulverização causam efeitos agudos. Os efeitos crônicos, por sua vez, decorrem da exposição repetida, em geral a doses menores e podem se manifestar de semanas, meses até anos depois. Para esses efeitos também existem variações como efeitos subagudos, subcrônicos, quando as exposições ocorrem por dias, semanas ou meses.

Os estudos realizados com seres humanos que avaliam efeitos crônicos são escassos por decorrência da dificuldade de realização dos estudos, ou mesmo de acompanhamento das populações por um longo período. Estudos que avaliam efeitos agudos são menos incomuns, pois ocorrem logo após grandes acidentes, tentativas de suicídio ou de envenenamento e, embora também sejam subnotificados, são os que são registrados nos sistemas de informação.

A ANVISA classifica o 2,4-D como Classe I (ANVISA, 2014), ou seja, Extremamente Tóxico. Esse critério baseia-se, unicamente, nos efeitos agudos, que a substância é capaz de produzir após a exposição **única** em animais de laboratório.

Em uma revisão de 66 casos de ingestão de 2,4-D em situações de envenenamento de seres humanos, foram observados efeitos neurotóxicos como coma, hipertonia, hiperreflexia, ataxia, nistagmus, miosis, alucinações, convulsões, fasciculações e paralisia (BRADBERRY et al, 2000). Já em outro estudo com trabalhadores expostos cronicamente a doses menores apresentaram esclerose amiotrófica lateral (BURNS; BEARD; CARTMILL, 2001) que é um tipo de efeito que apesar de sua gravidade, não é objeto de estudo dos testes realizados para a obtenção do registro, nem tão pouco, levados em consideração para fins de rotulagem.

Alguns outros estudos epidemiológicos serão apresentados nos itens subsequentes. Os efeitos decorrentes da exposição ao 2,4-D apresentados nesse documento serão dispostos de acordo com o órgão ou funções fisiológicas investigadas. Centenas de outros estudos publicados demonstram que o 2,4-D causa danos sobre a saúde que são incompatíveis com condições mínimas de qualidade de vida, como efeitos nefrotóxicos (para os rins), hepatotóxicos (para o fígado) ou mesmo neurotóxicos, mas, apesar disso, esses efeitos não são considerados critérios que impeçam o registro de um produto no



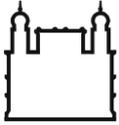
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Brasil. Desse modo, optou-se no presente documento por apresentar somente os estudos que avaliaram efeitos mencionados como critérios proibitivos de registro na Lei Federal 7.802 de 1989 (BRASIL, 1989) que, por si só já apresentam evidências suficientes para a proibição do 2,4-D no Brasil.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



#### **4. Toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento**

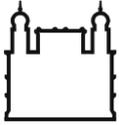
A *toxicologia reprodutiva* estuda os danos causados sobre o desempenho sexual e a fertilidade em consequência da exposição a uma substância. Dependendo do desenho experimental adotado, além das funções reprodutivas de machos e fêmeas, é possível avaliar os impactos da exposição no *desenvolvimento* da prole (filhotes). Nesses casos os animais de laboratório são expostos à substância teste desde antes do acasalamento, continuando pela gravidez, até o fim do período de amamentação e, tanto os pais como os filhotes, são investigados.

Outros tipos de teste são específicos para avaliar os impactos sobre a gestação e sobre o *desenvolvimento* da prole decorrentes da exposição na gravidez, ou seja, pré-natal.

Já a avaliação dos impactos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso (ou *neurotoxicidade do desenvolvimento*) se dá através de um teste onde a substância é administrada à mãe durante a gravidez e a lactação. Nesses casos é possível avaliar tanto os danos sobre a gestação e a lactante, como sobre o desenvolvimento dos filhotes através de testes que procuram identificar anomalias comportamentais e neurológicas menos refinadas, desenvolvimento físico, atividade motora, funções motora e sensoriais, aprendizado e memória, avaliação do peso do cérebro e da neuropatologia durante a vida pós-natal e a fase adulta.

##### **4.1 Toxicidade reprodutiva**

A toxicidade sobre o sistema reprodutivo decorrente da exposição ao 2,4-D foi relatada no documento do IPCS publicado em 1984. Neste, foram relatados problemas reprodutivos em ovelhas e gado que ingeriram vegetais contaminados (PALMER, 1972 apud IPCS, 1984). O documento menciona ainda estudos realizados nas décadas de 50 e 60, com animais de laboratório mas que apresentaram diversas limitações metodológicas. Em alguns destes o 2,4-D induziu alterações morfológicas em testículos, próstata e no processo de produção de espermatozoides na dose de 87,5 mg 2,4-D/kg de peso corpóreo/dia (IPCS, 1984). Em um estudo com ratos, foi observada a diminuição da fertilidade em decorrência da exposição ao 2,4-D nas doses de 100 ou 125 mg/kg/dia (BOULAKOUD et al, 2001).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



### *Estudos com seres humanos*

Estudos mais recentes com fazendeiros da Argentina, que trabalhavam aplicando 2,4-D, mostraram diminuição da mobilidade do espermatozoide, níveis aumentados de morte e de alterações de formato dos espermatozoides (LERDA; RIZZI, 1991). Nesse mesmo estudo o 2,4-D foi encontrado na urina dos trabalhadores confirmando a exposição a esse herbicida.

Outros estudos também mostraram a indução de abortos espontâneos que podem estar relacionados a danos sobre as funções reprodutivas ou danos nas células germinativas dos pais (ARBUCKLE; LIN; MERY, 2001).

## **4.2 Toxicidade do desenvolvimento**

Os estudos de toxicocinética citados anteriormente demonstram que o 2,4-D pode passar através da placenta e para o leite materno demonstrando que essas fases do desenvolvimento devem ser avaliadas com especial atenção no que tange os efeitos tóxicos decorrentes do 2,4-D.

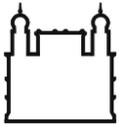
Estudos realizados com diferentes espécies tem mostrado que a exposição pré- e/ou pós-natal ao 2,4-D causam danos muito graves para a prole. Dependendo do período de exposição e dos órgãos ou funções atingidos, os efeitos podem comprometer as gerações subsequentes, seja interferindo com o desenvolvimento motor, comportamental, intelectual, reprodutivo, hormonal ou com o sistema de defesa (imunológico), além de abortos ou morte nos primeiros meses de vida.

Os estudos apresentados a seguir serão divididos de acordo com o período em que a mãe foi exposta ao 2,4-D: período pré-natal, período pós-natal ou neurotoxicidade do desenvolvimento que, em geral, avalia a exposição nos períodos pré- e pós-natal.

### *Efeitos decorrentes da exposição pré-natal*

A capacidade de atravessar a placenta e atingir os órgãos do feto em formação pode causar danos sobre os órgãos e as funções fisiológicas, ou mesmo interferir com moléculas que tem papel relevante para o indivíduo em formação. Mesmo que a exposição a substância seja pontual, dependendo do efeito causado, os danos podem ser irreversíveis e refletir na vida do indivíduo até a fase adulta.

Em ratos, a exposição pré-natal ao 2,4-D levou a reabsorções (ou seja, perda de fetos após a implantação no útero), diminuição do peso e do tamanho dos fetos, aumento dos ventrículos cerebrais e sangue na cavidade peritoneal (BUSLOVICH et al, 1976 apud IPCS, 1984).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



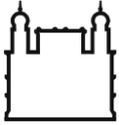
Em outro estudo (SCHWETZ et al, 1971 apud IPCS, 1984), os fetos de ratas que receberam as doses de 50 e 87,5 mg/kg de peso corpóreo por via oral de 2,4-D do 6º ao 15º dia da gestação, apresentaram redução do peso corpóreo. Além disso, algumas alterações de estruturas ósseas como costelas, foram observadas em mais de um estudo citado sendo que em um deles, os efeitos foram observados na dose de 25 mg/kg de peso corpóreo/dia. Outros efeitos na prole de ratas tratadas durante a gravidez também foram encontrados como hemorragia interna na dose de 50 mg/kg de peso corpóreo/dia. Segundo o documento, em ratos, considerou-se que a dose de 10 mg/kg de peso corpóreo/dia não levou ao aparecimento de efeitos fetotóxicos ou teratogênicos, ou seja malformações.

Já em camundongos, outra espécie de roedores bastante utilizada nesse tipo de estudo, o 2,4-D induziu morte fetal e fenda palatina, após a exposição a uma dose de 124 mg/kg de peso corpóreo/dia (COURTNEY, 1977 apud IPCS, 1984).

Em hamsters expostos do dia 6 ao dia 10 de gestação, foi observada a diminuição da viabilidade fetal nas doses de 40, 60 e 100 mg/kg/peso corpóreo/dia (COLLINS; WILLIAMS, 1971).

Em estudo realizado com ratos expostos através da dieta ao 2,4-D (70 mg/kg peso corpóreo/dia) do 16º dia de gestação até do dia 23 pós-natal, efeitos sobre o comportamento associado aos neurotransmissores dopamina e serotonina, tais como anomalias motoras, movimentos verticais de cabeça e hiperatividade em campo aberto (BORTOLOZZI; DUFFARD; EVANGELISTA DE DUFFARD, 1999). Nesse estudo o 2,4-D induziu alterações neurológicas quando a exposição se deu através da mãe, seja pela gestação ou pela lactação. Mesmo que alguns dos efeitos aparentemente tenham cessado após o fim da exposição, outros podem impactar o comportamento durante a fase adulta, dentre outros fatores pelo fato de ser nessa fase (pré- e pós-natal), onde ocorre o amadurecimento e “configuração” das conexões entre os neurônios (BORTOLOZZI; DUFFARD; EVANGELISTA DE DUFFARD, 1999).

Em um estudo com ratas expostas ao 2,4-D do 1º ao 19º dia de gestação foi observada a diminuição do peso do útero, peso da ninhada, peso corpóreo e tamanho fetal. Também foi observado aumento de ninhadas com alterações morfológicas e esqueléticas das mães expostas ao 2,4-D. Essas alterações incluem ossificação incompleta do crânio, esternebras, vertebras e membros, costelas fundidas e assimétricas e divididas (MAZHAR et al, 2012). Outros estudos em ratos também mostraram os mesmos danos, como aumento do número de costelas (CHERNOFF et al, 1990), anomalias esqueléticas e redução do peso corpóreo (CHARLES et al, 2001).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Muitos autores tem apontado que alguns efeitos tóxicos decorrentes do 2,4-D devem-se a sua capacidade de aumentar a quantidade de radicais livres no organismo. No estudo de Mazhar e colaboradores, os autores investigaram se a exposição a um composto antioxidante (que diminui a quantidade de alguns radicais livres) reverteria os danos causados na gestação e nos fetos. A redução observada foi muito pequena, indicando que outros mecanismos de ação indutores da toxicidade devem estar envolvidos, não podendo ser considerada como uma medida de prevenção para esse tipo de exposição (MAZHAR et al, 2012). Nesse estudo também foi observado o aumento de peroxidação lipídica (ou seja, degradação dos lipídios através de espécies reativas de oxigênio) no fígado das mães expostas ao 2,4-D.

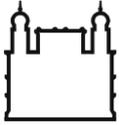
Esses diversos efeitos embrio-fetotóxicos podem ser causados pelo estresse oxidativo causado pelo 2,4-D, levando a alterações de membrana, interferindo com várias moléculas celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos que causam danos na mitocondria, bloqueio de células embrionárias, diminuição de adenosina trifosfato (ATP), apoptose e função de genes críticos para o desenvolvimento, diferenciação e maturação (KOWALTOWSKI; VERCESI, 1999; WANG et al, 2002; LAVOIE; CHESSEX, 1997).

Outros autores tem demonstrado que o 2,4-D é teratogênico, ou seja, induz malformações fetais (SCHARDEIN, 1993 apud SCHREINEMACHERS, 2003). A exposição ao 2,4-D em diferentes períodos da gestação (dia 6 ao 15º; dia 6 ao 10º; dia 11 ao 15º) levou a toxicidade materna e embriofetalidade, malformações nos rins e urogenitais em ratos (SULIK et al, 2004; FOFANA et al, 2002).

Um estudo demonstrou que a exposição ao 2,4-D em doses baixas através da ingestão de água, próximas do que seria consumido pelos seres humanos causou danos na ninhada, como redução do tamanho dos camundongos filhotes (CAVIERES et al. 2002). Corroborando esse achado, um estudo realizado com o “cultivo” de embriões extraídos de camundongos grávidas e expostos a doses muito baixas de 2,4-D também causaram danos nos embriões (GREENLEE; ELLIS; BERG, 2004)

### ***Estudos com seres humanos***

Um estudo canadense avaliou a possibilidade de alterações na gravidez a partir da observação de casais residentes próximos a fazendas, sendo que pelo menos um dos dois deveria, obrigatoriamente estar trabalhando nesse tipo de estabelecimento (ARBUCKLE; LIN; MERY, 2001).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Foi observado que mulheres expostas ao 2,4-D de três a quatro meses antes da concepção ao 2,4-D apresentaram maior risco de abortos em qualquer idade gestacional, porém o risco estava ainda mais aumentado durante as 12 primeiras semanas de gravidez (ARBUCKLE; LIN; MERY, 2001).

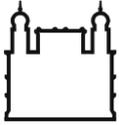
Outro dado extremamente importante apresentado pelos autores foi que a exposição antes da concepção contribuía mais para a indução de abortos do que a exposição durante o primeiro trimestre da gravidez. Com isso, mesmo que durante a gravidez a mulher interrompa seu trabalho na lavoura, ou que tenha hábitos voltados para a escolha mais criteriosa da qualidade da água e dos alimentos que consome para proteger seu bebê, a exposição que ocorreu antes da gravidez já pode ser capaz de promover danos tornando inevitáveis ao embrião ou ao feto.

O estudo mencionado acima mostra ainda o impacto do uso de misturas, uma vez que o 2,4-D, na presença de outro agrotóxico carbaril (também registrado no Brasil como inseticida de uso agrícola e doméstico) aumenta em até 27 vezes o risco de aborto em mulheres com 35 anos ou mais (ARBUCKLE; LIN; MERY, 2001).

### ***Efeitos decorrentes da exposição pós-natal***

Em ratos expostos ao 2,4-D durante o período da lactação os seguintes efeitos foram encontrados: déficit de mielinização do sistema nervoso central, aumento da reatividade de neurônios a serotonina, aumento do tamanho do filamento neuronal, astrogliose extrema no hipocampo e cerebelo, alterações no conteúdo e composição de gangliosídeos (BRUSCO et al, 1997; DUFFARD et al, 1996; EVANGELISTA DE DUFFARD, et al, 1995; ROSSO et al, 1997; BORTOLOZZI et al, 1996; BORTOLOZZI et al, 1998; DUFFARD et al, 1990). Em síntese, essas alterações podem levar a alterações na coordenação motora, catalepsia, apatia, movimentos repetidos, tremores, imobilidade e em estados emocionais como medo e hiperatividade (HOLSON, et al, 1997; BORTOLOZZI; DUFFARD; DUFFARD, 1999).

Outro estudo que deve merecer destaque mostrou que o 2,4-D administrado a ratas durante a lactação alterou a composição do leite materno (STURTZ et al, 2006). Como consequência, essa alteração pode levar a um estado de desnutrição, uma vez que foi observada a diminuição do tamanho da ninhada.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



### *Neurotoxicidade do desenvolvimento*

Alguns dos estudos mostraram que o 2,4-D induziu alterações nas atividades de enzimas responsáveis pelos mecanismos de defesa do organismo, e/ou dos níveis de espécies reativas de oxigênio em regiões específicas do cérebro de ratos recém-natos. Dependendo da região do cérebro, as regiões se mostraram mais, menos ou nada afetadas. As áreas mais afetadas são aquelas relacionadas ao sistema dopaminérgico, importante regulador da pressão arterial, função renal, balanço hídrico e função de diferentes hormônios como a prolactina (FERRI; DUFFARD; DE DUFFARD, 2007).

Em pássaros também foi observada a hipomielinização (diminuição da produção de mielina que, por sua vez, é responsável pela transmissão dos impulsos nervosos) e diminuição de outros marcadores associados (MORI DE MORO et al, 1993).

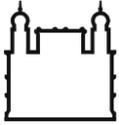
Muitas das funções do sistema nervoso, fundamentais para o desenvolvimento de um indivíduo, são dependentes da ação coordenada de hormônios, neurotransmissores e seus respectivos receptores, localizados em tecidos e órgãos espalhados por todo o organismo (SELGRADE, 1999; KIOUSSIS; PACHNIS, 2009).

A interação entre esse sistema, o sistema endócrino (hormonal) e o imunológico (sistema de defesa) influencia a imunovigilância, a regulação metabólica e as alterações das funções hormonais, refletindo, assim, nas interações com o ambiente, incluindo patógenos e outros agentes físicos ou químicos, com suas fontes de nutrientes, mas também como reagem a estímulos neurossensoriais, emocionais e comportamentais. Em outras palavras, efeitos tóxicos nesse nível podem ter repercussões sobre como os indivíduos se relacionam biológica e socialmente com outras espécies e outros indivíduos (FRIEDRICH, 2013).

### *Estudos epidemiológicos*

Aplicadores de agrotóxicos provenientes de áreas com uso intenso de 2,4-D apresentam maior número de crianças nascidas com alterações circulatórias e respiratórias, efeitos sobre o sistema urogenital e do músculo esquelético que os filhos de pessoas não expostas (COX, 1999).

## **4.3 Conclusões e considerações sobre toxicidade materna, teratogênese e critérios para proibição**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Os estudos apresentados nesse item comprovam que o 2,4-D é capaz de atravessar a barreira transplacentária e o leite materno expondo os embriões e fetos e os recém-natos aos seus efeitos tóxicos.

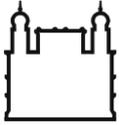
Dentre os efeitos encontrados estão malformações estruturais, funcionais, esqueléticas e de órgãos que podem se manifestar ou ter impactos até o fim da vida do organismo. Os estudos realizados com seres humanos mostraram que o 2,4-D induziu abortos, quando as mães se expuseram antes ou durante a gestação o que pode corroborar os dados com animais de laboratório, onde as malformações observadas também podem levar a perdas fetais.

Também foram encontradas alterações neurotóxicas em filhotes expostos ao 2,4-D através da mãe, durante a gestação e a lactação. Em seres humanos, essas alterações podem impactar de maneira negativa a memória, o raciocínio, o conhecimento e a locomoção.

*Os estudos de toxicidade sobre o desenvolvimento, em especial aqueles que avaliam se a substância causa embrio-fetotoxicidade e malformações (teratogênese) merecem algumas considerações que podem impactar diretamente na possibilidade de uso de um agrotóxico segundo a legislação brasileira.*

Em alguns estudos experimentais onde foram encontrados danos sobre a ninhada nas mesmas doses em que foram encontrados indícios de toxicidade materna, como malformações estruturais em geral em filhos de mães expostas durante a gravidez ao 2,4-D, houve uma tendência de alguns autores em subestimar tais achados. A justificativa dos autores é que esses danos se manifestavam em consequência da toxicidade materna também observada. Esse tipo de conclusão não é restrita ao 2,4-D, uma vez que outros autores afirmam que, na presença da toxicidade materna, a substância não é considerada deletéria para o desenvolvimento embriofetal.

Esses argumentos podem ter um impacto direto, permitindo a utilização pela população de um agrotóxico que causa danos muitos graves à saúde. Alguns equívocos nesse sentido já foram cometidos, como no estudo com o medicamento lenalidomida, um análogo da talidomida, que não foi considerado teratogênico em coelhos, pois os danos ocorreram nas mesmas doses onde foi observada a toxicidade materna (BEYER et al, 2011). No momento do registro do medicamento na Europa, a agência regulatória responsável solicitou que estudos com macacos fossem realizados e que vieram a mostrar essa substância induziu malformações e que, portanto, seu uso durante a gravidez deveria ser evitado (BEYER et al, 2011). Achados semelhantes foram encontrados por outros autores que demonstraram que a toxicidade materna não estava correlacionada com danos embrio-fetais encontrados (KAVLOCK;



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



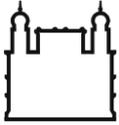
CHERNOFF; ROGERS, 1985; CHERNOFF et al, 1990; CHAHOUD et al, 1999; CHARLES et al, 2001).

Esses achados demonstram que não é possível afirmar que a toxicidade materna e a embriofetal sejam dependentes e que uma substância que cause toxicidade materna não possa também ser considerada teratogênica, quando os dois tipos de efeitos forem encontrados na mesma dose (DANIELSSON, 2013). Além disso, mesmo que esses efeitos decorram da toxicidade materna, durante a gestação a vida em formação é totalmente dependente da mãe, e mesmo para uma substância cujo alvo primário não seja o embrião e o feto, a toxicidade materna é extremamente relevante e deve ser observada com extrema preocupação.

Essa controvérsia da literatura científica é de fundamental importância na regulação de agrotóxicos do Brasil onde um dos critérios de proibição é a toxicidade embriofetal (teratogênese). Nesses casos, existe uma tendência em minimizar os achados dos estudos com agrotóxicos, como foi o caso de alguns estudos realizados com o 2,4-D, alegando que os efeitos sobre os filhotes seriam secundários a toxicidade materna, desclassificando-os como teratogênicos. Todavia, em outros estudos com o 2,4-D, efeitos teratogênicos foram encontrados em doses onde a toxicidade materna não foi evidenciada, reforçando o argumento que não é seguro desconsiderar a sua capacidade de causar malformações fetais nas mesmas doses em que a mãe também manifestou efeitos tóxicos.

**Todos os achados descritos nesse item são bem consistentes uma vez que foram encontrados em mais de uma espécie, incluindo em estudos com populações humanas.**

**Os resultados comprovam que o 2,4-D causa danos sobre o desenvolvimento neurotóxico, que pode prejudicar a vida de um indivíduo até a vida adulta. Os estudos também são consistentes para afirmar que o 2,4-D é teratogênico, ou seja, causa malformações fetais, um dos critérios proibitivos do seu uso segundo a lei brasileira.**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



## **5. Toxicidade sobre o sistema hormonal ou desregulação endócrina**

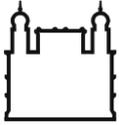
Esse tipo de efeito tóxico causa danos sobre as estruturas e funções dos hormônios através de diversos mecanismos como a produção, liberação, transporte, metabolismo, excreção e ligação dessas moléculas. Os hormônios são responsáveis pela regulação de diferentes funções fisiológicas, como o metabolismo de lipídios, proteínas, reprodução, crescimento, desenvolvimento neuronal, regulação da temperatura, resposta ao estresse, dentre outras. Conseqüentemente, substâncias que causam esses danos devem ser tomadas como altamente deletérias para os organismos.

Por outro lado, a grande diversidade das moléculas, e de como atuam nas funções citadas acima, os testes para avaliação da toxicidade não permitem avaliar todas as possibilidades de interação e de danos de substâncias sobre esse importante sistema fisiológico.

O 2,4-D altera de diversas formas o sistema endócrino que pode ser dividido de acordo com os eixos de regulação, sendo os principais os eixos hipotálamo-pituitária-tireoide (HPT), hipotálamo-pituitária-adrenais (HPA), hipotálamo-pituitária-gônadas (HPG). O hipotálamo e a pituitária são glândulas situadas na base do cérebro liberadoras de hormônios que, por sua vez, estimulam que outros hormônios também sejam liberados por outras glândulas, como os tireoidianos (pela tireóide), os corticoides (pelas adrenais) e os estrógenos e andrógenos (pelos ovários e testículos). Os três eixos de regulação hormonal estão inter-relacionados e uma pequena alteração em um deles, pode impactar os demais eixos e causar danos muito maiores que os identificados pontualmente pelos métodos preconizados.

Animais de criação como ovelhas e gado que ingeriram 2,4-D acidentalmente manifestaram alterações na tireóide (PALMER, 1972 apud IPCS, 1984). Outros estudos, incluindo alguns realizados com ratos, corroboram esses achados, pois mostraram que o 2,4-D interfere na captação de iodo (SOS; KERTAI, 1958; FLORSHEIM; VELCOFF, 1962; FLORSHEIM ET AL, 1963; TSILIKOV, 1969; GORSHKOV, 1972 apud IPCS, 1984). Efeitos semelhantes foram encontrados em outros estudos, ou seja, a interferência do 2,4-D na captação de iodo pela tireoide e na ligação deste a proteínas presentes no sangue responsáveis pelo transporte através do corpo (VAN DEN BERG et al, 1991; FLORSHEIM; VELCOFF, 1962).

Em um estudo para avaliar a afinidade de ligação do 2,4-D, foi possível observar que ele interage com esses sítios, levando a diminuição do hormônio T4 em ratos (VAN DEN BERG et al, 1991).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Dependendo da fase do desenvolvimento, esses efeitos podem levar a um quadro de hipotireoidismo, causando lesões permanentes no cérebro (ROMAN, 2007). Alterações nos hormônios e na função tireoideana durante as fases iniciais do desenvolvimento levam a danos no transporte de neurônios permanentes e que são muito semelhantes aquelas observadas durante o autismo (SADAMATSU et al, 2006). Dessa maneira, contaminantes ambientais, incluindo herbicidas como o 2,4-D que tem ação anti-tireoideana (COLBORN, 2004; COLBORN, 2006), podem contribuir para a indução de autismo (ROMAN, 2007). Essas alterações de hormônios tireoidianos podem estar correlacionadas aos danos neurotóxicos citados anteriormente.

Efeitos sobre a função das adrenais, também foram encontrados em outros estudos com ratos expostos ao 2,4-D. Nessa espécie, foi observada a dificuldade de regular a temperatura corpórea (SUDAK et al. 1966 apud IPCS, 1984) e a interferência com o metabolismo de carboidratos e miotonia (KENIGSBURG, 1968; BUSLOVICH; KOLDOBSKAYA, 1972 apud IPCS, 1984).

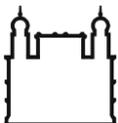
O 2,4-D levou a diminuição da liberação do hormônio prolactina, que é responsável pela produção do leite materno. Essa diminuição da prolactina foi causada pela indução da enzima óxido nítrico sintase e da dopamina e inibindo a transmissão de serotonina hipotalâmica (STURTZ et al, 2010), demonstrando a interrelação entre os sistemas nervoso e hormonal.

Outro hormônio diminuído após a exposição ao 2,4-D foi a progesterona (hormônio responsável pela manutenção da gestação), como mostrado em estudo realizado com ratos expostos. As doses que causaram danos foram: 50 ou 125 mg/kg/dia (BOULAKOUD et al, 2001).

O 2,4-D causou diversas alterações em órgãos reprodutivos masculinos. Em ratos foi observado aumento na próstata e alterações na glândula de Cowper (responsável pela secreção de fluido seminal) e no pênis (KIM et al, 2002). Esses achados podem ser explicados por diversos mecanismos como aumento da produção do receptor de androgênio (hormônio masculino), que é aumentada pela ação do 2,4-D (KIM et al, 2005). Esses achados em animais de laboratório corroboram os resultados encontrados nos estudos com seres humanos citados a seguir.

### ***Estudos com seres humanos***

Em um estudo realizado com pessoas expostas ao 2,4-D, comprovada através da sua identificação na urina, mostrou alterações dos níveis de lipídios, como diminuição do HDL, aumento de triglicerídeos, insulina, peptídeo C e do hormônio tireoideano TSH. Em conjunto, esses resultados



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



mostram que pessoas expostas podem apresentar maior risco de infarto agudo do miocárdio, obesidade e diabetes tipo 2 (SCHREINEMACHERS, 2010). Os achados desses estudos corroboram com os dados de outros autores que também encontraram alterações relacionadas ao metabolismo de lipídios e alterações dos hormônios tireoidianos (VAINIO et al, 1983; MASTORAKIS et al, 2007; VAN DEN BERG et al, 1991; BUSLOVICH; KOLDOBSKAYA, 1972 apud IPCS, 1984; COLBORN, 2004; COLBORN, 2006). Além disso, também estão de acordo com outros achados citados anteriormente, que mostraram a toxicidade sobre o desenvolvimento, incluindo do sistema nervoso, que está fortemente relacionada a ação dos hormônios tireoidianos.

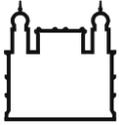
Aplicadores de 2,4-D dos Estados Unidos mostraram níveis elevados do hormônio luteinizante (LH), que estimula a liberação de hormônios sexuais masculino e feminino, podendo impactar no ciclo menstrual, na ovulação e na fertilidade feminina (GARRY et al, 2001). Também foi observado o aumento da testosterona (um hormônio masculino), proporcional aos níveis de 2,4-D na urina, durante o inverno. Esse dado não deve ser desconsiderado, uma vez que as alterações hormonais nem sempre obedecem a uma regra de linearidade dose e efeito, ou seja, nem sempre o efeito é proporcional a dose a qual a pessoa esteve exposta.

### ***Conclusões sobre efeitos do sistema endócrino do 2,4-D***

Efeitos sobre os hormônios e, conseqüentemente, sobre as funções desempenhadas por eles, foram relatados após a exposição ao 2,4-D. O 2,4-D interferiu de forma negativa em diferentes eixos de regulação hormonal, como o eixo da tireóide, das adrenais e das gônadas (órgãos sexuais). Os achados foram encontrados em mais de uma espécie de animais de laboratório (ratos, camundongos, galinhas, cabras), mas também em seres humanos.

Os danos causados pelo 2,4-D desregulam a ação de hormônios, podendo alterar desde funções nutricionais podendo levar a obesidade e a diabetes, passando por alterações na tireóide que interferem com o desenvolvimento normal de um indivíduo de diversas maneiras (crescimento do corpo, conhecimento, raciocínio) até comprometer a produção de leite materno e a reprodução.

Por esses fatores, esse herbicida é considerado um desregulador endócrino, causando distúrbios hormonais que influenciam diversas funções fisiológicas fundamentais a vida e a perpetuação das espécies.



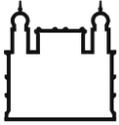
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



**O 2,4-D provoca danos em diferentes hormônios responsáveis por funções fundamentais para a manutenção da vida, como demonstrado em diferentes espécies de animais de laboratório e em estudos epidemiológicos. Como esse tipo de efeito é um dos critérios proibitivos do registro de agrotóxicos da legislação brasileira, o 2,4-D deve ter seu uso proibido no Brasil.**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



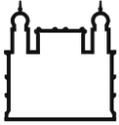
## 6. Mutagênese e câncer

O herbicida 2,4-D não foi avaliado individualmente pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), mas o grupo de herbicidas clorofenoxi ao qual pertence foi inserido no grupo 2B (evidências de carcinogenicidade para seres humanos) (IARC, 1987). Na monografia da IARC, são mencionados estudos em ratos e camundongos onde foram observados aumentos na incidência de tumores (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 1987). Essa publicação fundamentou-se em estudos epidemiológicos com pessoas expostas ao 2,4-D e outros agrotóxicos do mesmo grupo.

O câncer é uma doença que pode ser causada por diversos fatores, incluindo predisposições genéticas e fatores ambientais, como a exposição a substâncias químicas. O câncer pode atingir diferentes tecidos do organismo, mas é iniciado, a partir de uma única célula que sofreu mutação no seu material genético e passou a ter características anormais. Em seguida, essa célula se multiplica de maneira descontrolada, até se tornar um tumor. Contudo, o tempo entre a mutação e a formação de um tumor que seja detectável, pode levar anos ou até décadas.

Estudos comprovaram que diversos agrotóxicos são capazes de induzir mutações no material genético (DNA) e que, por isso, são chamados de mutagênicos ou carcinógenos genotóxicos. Em teoria, uma única molécula desse tipo de agrotóxico pode causar mutação e iniciar o processo de formação de um câncer. Por essa razão, para esse tipo de efeito não existe um limiar de segurança, ou seja, quantidades mínimas de um agrotóxico, as quais um indivíduo pode estar exposto com baixo risco de vir a manifestar um câncer no futuro. Por outro lado, os agrotóxicos também podem interferir com mecanismos que controlam a morte celular e o crescimento descontrolado, por isso são denominados carcinógenos não-genotóxicos, desencadeando a segunda etapa da formação de um câncer.

Alguns estudos *in vitro* (ou seja, em células isoladas) relacionados pelo IPCS apresentaram danos mutagênicos causados pelo 2,4-D em células de ovário de hamster chinês (AHMED et al, 1977 *apud* IPCS, 1984), mas não em bactérias ou células de leveduras (ANDERSEN et al., 1972 *apud* IPCS, 1984; ZETTERBERG, 1977 *apud* IPCS, 1984; MORIYA et al., 1983 *apud* IPCS, 1984). Danos cromossômiais foram encontrados em células de plantas (KHALATKAR; BHARGAVA, 1982 *apud* IPCS, 1984) e em culturas de linfócitos humanos (PILINSKAYA, 1974 *apud* IPCS, 1984; KORTE & JATAL, 1982 *apud* IPCS, 1984), mas não em linfócitos bovinos (BONGSO; BASRUR, 1973 *apud* IPCS, 1984). Alterações nos cromossomos, que são estruturas formadas pelo DNA e que comportam o



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



material genético de cada indivíduo, são indicadores de uma substância genotóxica, assim como a formação de micronúcleos, que são fragmentos de material genético em decorrência de danos nos cromossomos ou na divisão celular (SALVADORI; MARQUES; RIBEIRO, 2003). Os testes para avaliar alterações (aberrações) cromossômicas ou indução de micronúcleo podem ser realizados em culturas de células ou em animais de laboratórios expostos a substâncias químicas.

Em estudos *in vivo* camundongos expostos por via oral a doses de 100 a 300 mg 2,4-D/kg de peso corpóreo apresentaram aberrações cromossômicas (PILINSKAJA, 1974 *apud* IPCS, 1984), mas não quando a exposição foi por via intraperitoneal (JENSSEN; RENBERG, 1976 *apud* IPCS, 1984), indicando que a via de exposição pode ser determinantes para o aparecimento da toxicidade causada pelo 2,4-D e que as diferenças de resultados entre alguns estudos pode se dar pela diferença de via de exposição.

O estresse oxidativo, tratado adiante, é causado pela liberação de radicais livres e já está bem descrito como um mecanismo importante de causar mutações genéticas e induzir a formação de câncer (SALVADORI; MARQUES; RIBEIRO, 2003).

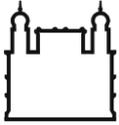
Alguns estudos tem mostrado que o 2,4-D causa danos no material genético através da produção de radicais livres mostrada em estudos *in vitro* e *in vivo* (BUSLOVICH et al., 1982 *apud* IPCS, 1984; VAINIO et al, 1982 *apud* IPCS, 1984; REDDY et al, 1980 *apud* IPCS, 1984, VAINIO et al, 1982 *apud* IPCS, 1984; GRAY et al, 1983 *apud* IPCS, 1984).

Estudos realizados posteriormente a publicação do IPCS e que mostram efeitos genotóxicos causados pelo 2,4-D serão apresentados a seguir.

No teste do cometa, que avalia danos no material genético, o 2,4-D mostrou danos em células de peixes (BOKAN et al, 2013), em células de ovário de hamster chinês (CHO) (GONZALEZ et al, 2005) e de embrião de hamster sírio (SHE) (MAIRE et al, 2007), mas no mesmo teste utilizando células de anfíbios esse dano não foi observado (CLEMENTS; RALPH; PETRAS, 1997).

Em outro estudo utilizado para avaliar a genotoxicidade, embriões de hamster sírio (SHE), mostraram resposta positiva indicando o potencial genotóxico em doses baixas de 2,4-D (MAIRE et al, 2007). Também foi observado o aumento na expressão da proteína c-myc que está envolvida no controle da proliferação celular.

Em estudo com camundongos expostos a baixas doses de 2,4-D (1,7 ou 3,3 ou 33 mg/kg) por via oral durante 5 dias (AMER; ALY, 2001) foram observadas aberrações cromossômicas nas células da



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



medula óssea e espermatozóides, nas duas maiores doses. Em ratos, aberrações cromossômicas também foram observadas (ADHIKARI; GROVER, 1988).

Em um estudo com cultura de linfócitos humanos o 2,4-D induziu aberrações cromossômicas, mas não em trabalhadores expostos a outros herbicidas do mesmo grupo químico (MUNTONEN et al, 1986).

### *Estudos epidemiológicos*

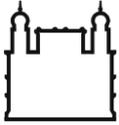
Em dois estudos realizados nos Estados Unidos pessoas expostas de 21 dias a 1 ano ao 2,4-D apresentaram duas a três vezes mais chance de desenvolver Linfoma Não-Hodgkin (HOAR et al, 1986; ZAHM et al, 1990).

Vários estudos tem mostrado associação do 2,4-D ao linfoma não-Hodgkin, vinculada a replicação de linfócitos e a indução de estudos citogenéticos (SOLONESCKI et al, 2007). Na Europa, estudo com fazendeiros mostrou que o 2,4-D diminuiu a população de linfócitos T, células exterminadoras naturais e repostas relacionadas a reprodução celular (FAUSTINI et al, 1996).

Outros estudos avaliaram os dados sobre a exposição a agrotóxicos, dentre eles o 2,4-D e o aparecimento de linfoma não-Hodgkin. Um deles mostrou que os trabalhadores que usavam o 2,4-D apresentavam maior risco de aparecimento desse tipo de câncer em alguns estados americanos, mas não em outros (CANTOR et al, 1992). Em diferentes áreas da Itália também foi evidenciado aumento do risco de linfoma não-Hodgkin (MILIGI et al, 2006).

As diferenças de resultados desses estudos podem ser justificadas por fatores associados a características genéticas das populações de diferentes regiões, que podem ser mais resistentes ou mais suscetíveis a exposição aos agrotóxicos (ALAVANJA; ROSS; BONNER, 2013). Além disso, esse tipo de linfoma é uma doença complexa, onde o tipo específico de célula envolvida em cada caso pode estar relacionado a diferentes causas (EKSTRÖM-SMEDBY, 2006). Esse fato poderia justificar algumas das diferenças de resultados de associações entre esse tipo de câncer e a exposição ao 2,4-D.

Alguns casos de câncer estudados por um grupo da Suécia mostram que o 2,4-D está associado a tumores mesenquimais e sarcomas (HARDELL, 1977; ERIKSSON et al, 1981; HARDELL, 2008).



Ministério da Saúde

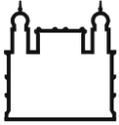
**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Outros estudos com trabalhadores, onde a exposição se deu a misturas de agrotóxicos, dentre eles o 2,4-D demonstraram que nessas situações de exposição pode ocorrer danos no material genético (GARAJ-VRHOVAC; ZELJEZIC, 2002).

**Esses achados demonstram que o 2,4-D induz estresse oxidativo, alterações no material genético (mutações) e também câncer em alguns grupos de pessoas expostas. Portanto, tem potencial de causar danos como mutagênese e carcinogênese que estão dentre os critérios proibitivos de registro de agrotóxicos.**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



## **7. Mecanismo de ação tóxica do 2,4-D**

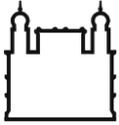
Os efeitos embrio-fetotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos causados pelo 2,4-D podem ocorrer, principalmente, em consequência do estresse oxidativo provocado por esse herbicida.

O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre a produção de moléculas oxidantes (ou espécies reativas de oxigênio, que são capazes de levar a perda de elétrons) e a presença de anti-oxidantes (capazes de evitar a perda de elétrons). Essas moléculas reativas, por apresentarem essa característica podem levar a danos no DNA, lipídios, proteínas e outras estruturas celulares (BOELSTERLI, 2007).

O estresse oxidativo causado pelo 2,4-D, causa alterações de membrana, interferindo com várias moléculas celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos que levam a danos na mitocôndria, bloqueio de células embrionárias, diminuição de adenosina trifosfato (ATP), diminuição da apoptose e alteração da função de genes críticos para o desenvolvimento, diferenciação e maturação (KOWALTOWSKI; VERCESI, 1999; WANG et al, 2002; LAVOIE; CHESSEX, 1997).

O 2,4-D pode induzir o estresse oxidativo desregulando as defesas com ações antioxidantes como as que atuam através das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, dentre outras, ou diminuindo os níveis de glutathione reduzida (BUKOWSKA, 2003; NAKBI et al, 2010; TAYEB et al, 2011). Ou seja, o 2,4-D causa estresse oxidativo de dois modos, seja produzindo espécies reativas de oxigênio ou ainda, diminuindo a capacidade do organismo de combater esses radicais (MAZHAR et al, 2012).

Alguns estudos que tentam propor que a administração de anti-oxidantes a animais de laboratório, poderia prevenir os danos causados pelo 2,4-D. Todavia, embora o efeito possa vir a apresentar uma leve diminuição em situações muito específicas e controladas em estudos experimentais, dificilmente será revertido por completo, nem tão pouco apresentaria garantia de efetividade nas condições reais de exposição humana. Além disso, esse método seria inviável de ser implementado em situações de exposição humana, e ainda a incerteza da eficácia dessa administração não justificaria a aceitação do risco de manifestação de efeitos graves e irreversíveis como a embrio-fetotoxicidade e a mutação no material genético.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



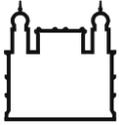
## **8. Considerações gerais sobre avaliação toxicológica do 2,4-D e o processo de avaliação toxicológica para o registro de agrotóxicos**

A *avaliação do risco* é definida como a caracterização científica dos potenciais efeitos adversos decorrentes da exposição humana a agentes ou situações perigosas. Nesse caso, define-se como *risco* a probabilidade de ocorrer um efeito adverso, e *perigo* como as propriedades tóxicas intrínsecas do agente/situação (FAUSTMAN; OMENN, 2001).

A avaliação do risco é utilizada pelas autoridades regulatórias para determinar os níveis aceitáveis de exposição a uma determinada substância. Esse processo é realizado em quatro etapas, sendo: (i) identificação do dano (ou perigo), onde se avalia quais são os efeitos causados pela substância em estudo; (ii) avaliação da relação dose e o efeito, também chamada de relação dose-resposta, que permite determinar a relação quantitativa entre a substância e o dano. Nessa etapa, procura-se determinar a dose em que os efeitos não são observados e que, em teoria, poderiam ser consideradas seguras para seres humanos; (iii) avaliação da exposição, considera o uso pretendido da substância, determinando a frequência, a duração e a magnitude para determinar a que quantidade teórica do agente a população-alvo estaria exposta; (iv) caracterização do risco, sistematização dos achados das etapas anteriores a partir das etapas anteriores (FAUSTMAN; OMENN, 2001) (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2014).

Todavia, a avaliação do risco ainda é limitada e muito distante da realidade de exposição aos agrotóxicos no Brasil e, assim, insuficiente para assegurar que essas substâncias não causem danos na população brasileira, seja aos consumidores de água e alimentos, aos residentes próximos a lavouras e aos trabalhadores de fábricas, da agricultura, ou do controle de vetores.

De forma sucinta, a avaliação do risco não leva em consideração que os seres humanos também estão expostos a outros produtos que possam ter na formulação os mesmos princípios ativos dos agrotóxicos de uso agrícola, como domissanitários, medicamentos veterinários e agroquímicos (AUGUSTO et al, 2012; FRIEDRICH, 2013). Conseqüentemente a soma dessas exposições pode aumentar em magnitude e diversidade os danos sobre a saúde decorrentes do uso desses produtos. Além disso, algumas informações são importantes para que o cálculo do risco seja dado de forma mais próxima a realidade de consumo e ao perfil de contaminação, como os dados de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos (in natura, carnes, ovos, leite, processados, água potável etc).



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

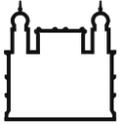
**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



Por outro lado, a avaliação do risco realizada no momento do registro de um agrotóxico “novo” no país, dispõe apenas dos resultados dos estudos apresentados pelo registrante e que são realizados por laboratórios contratados. Esses estudos são realizados sob condições de “Boas Práticas de Laboratório” (BPL), que consiste de um conjunto de critérios voltados para o “*processo organizacional e as condições em que os estudos laboratoriais são planejados, realizados, monitorados, registrados e reportados*” (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1998). Apesar disso, o fato de um estudo ter seguido BPL não assegura que a metodologia utilizada foi capaz de verificar todos os possíveis efeitos decorrentes da exposição a um agrotóxico. Para a avaliação da toxicidade de uma substância são utilizadas diferentes metodologias voltadas para diferentes desfechos: toxicidade aguda, crônica, mutagenicidade, carcinogenicidade, toxicidade reprodutiva, dentre outros. Apesar disso, essas metodologias, que seguem orientações detalhadas nas “Diretrizes” preconizadas por agências ou organismos internacionais, acabam sendo limitadas para identificar o grande espectro de efeitos causados pelos agrotóxicos e não incorporam os avanços mais recentes de novas técnicas voltadas para a detecção de danos que são utilizadas por grupos de pesquisa especializados, renomados e sem conflitos de interesse (FRIEDRICH, 2013).

Como exemplo, agrotóxicos capazes de causar danos no sistema endócrino (hormonal) e o sistema imunológico (de defesa), dificilmente tem todo o seu espectro de danos identificados pelas metodologias realizadas para o processo de registro, que não são capazes de investigar esses dois sistemas mais profundamente (FRIEDRICH, 2013). Outro tipo de efeito que apresenta grave impacto sobre a vida de um indivíduo é a toxicidade sobre o desenvolvimento do sistema neurotóxico para a qual também não existem “Diretrizes” mais precisas (COLBORN, 2006) como demonstrado em estudos realizados com outras metodologias mais aprofundadas e refinadas, citados no presente documento e que foram capazes de identificar danos muito sérios sobre a saúde ocasionados pelo 2,4-D (BRUSCO et al, 1997; DUFFARD et al, 1996; DUFFARD, et al, 1995; ROSSO et al, 1997; BORTOLOZZI et al, 1996; BORTOLOZZI et al, 1998; DUFFARD et al, 1990; HOLSON, et al, 1997; BORTOLOZZI; DUFFARD; DUFFARD, 1999; FERRI; DUFFARD; DUFFARD, 2007).

Além dessas limitações metodológicas, os estudos apresentados no momento do registro, são realizados expondo os sistemas celulares ou os animais de laboratório a um único agrotóxico, sem considerar que a realidade de uso desses produtos nas lavouras brasileiras envolve a utilização de uma grande variedade de produtos. Essas misturas, que podem chegar aos alimentos como vem sendo



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



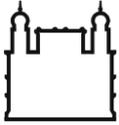
mostrado anualmente pela ANVISA, do ponto de vista toxicológico podem interagir e levar a efeitos muito maiores ou mesmo de outros tipos de danos celulares, teciduais e funcionais que não haviam sido identificados nos estudos de laboratório (AUGUSTO et al, 2012).

Ademais, dependendo da via de absorção (oral, dérmica, inalatória) o agrotóxico percorre um “caminho” dentro do organismo, podendo ser metabolizado de diferentes maneiras, velocidades, formando, inclusive, produtos (metabólitos) diferentes que podem ser mais ou menos danosos dependendo de alguns fatores. Esses fatores incluem a quantidade que foi absorvida, a idade, a presença de outros contaminantes, incluindo outros agrotóxicos, de características genéticas (hereditárias), ou os territórios onde vivem, e seus contextos que podem aumentar vulnerabilidades ou impor vulnerações. Ou seja, todos esses fatores permitem concluir que os danos à saúde de pessoas expostas aos agrotóxicos, são subdimensionados nos estudos com animais de laboratório, que são altamente controlados.

Por conta disso, se faz urgente que o registro de agrotóxicos no Brasil seja realizado periodicamente. Desse modo, seria possível incorporar na avaliação do risco novos estudos que venham a ser realizados por grupos de pesquisa independentes e sem conflito de interesses, que utilizam metodologias mais modernas e mais sensíveis para diversos tipos de danos (AUGUSTO et al, 2012; CARNEIRO, 2012; RIGOTTO et al, 2012; FIREDRICH, 2013) ou mesmo, verificar se mudanças ou características específicas dos territórios onde são utilizados impactaram em danos não previstos no registro e que podem justificar a sua proibição em níveis locais, ou mesmo nacional.

Por outro lado, o Brasil é, senão o maior, um dos maiores consumidores mundiais de agrotóxicos, além de apresentar territórios onde são evidentes os contextos de injustiça social e ambiental; e onde políticas de vigilância e estudos de pesquisa em populações expostas, ainda são escassos e insuficientes para propor ações de cuidado e de mitigação de danos efetivos. Além disso, dificilmente as metodologias de “*avaliação do risco*” disponíveis, tomando como base informações médias dos brasileiros ou de grupos populacionais provenientes de contextos e territórios com situações de injustiça social, seriam eficazes para a proteção dessas pessoas (SEXTON; LINDER, 2010; SEXTON, 1997; COOPER et al, 2001).

É fundamental destacar que, como previsto na legislação brasileira aplicável a agrotóxicos, o processo de *avaliação do risco* - que resulta no cálculo de limites, como, os limites máximos de exposição, limites máximos de resíduos que podem ser encontrados nos alimentos e os volumes de aplicação - só deve ser realizado para aqueles produtos que **não causem os efeitos** que indicam a



Ministério da Saúde

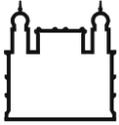
**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



proibição do registro (teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos, distúrbios hormonais e danos ao aparelho reprodutor (Lei 7.802, 1989, art. 3º, §6º, alíneas “c” e “d”). Nesses casos, na primeira etapa da avaliação do risco (identificação do perigo) de um agrotóxico, quando um desses efeitos for observado em estudos experimentais ou epidemiológicos, o seu uso deve ser proibido, sem a necessidade de prosseguir com as etapas subsequentes.

Nos países onde o 2,4-D é permitido, que não apresentam esses critérios de proibição, a “avaliação do risco” é realizada determinando-se limites máximos de exposição, independente do tipo de efeito que induz. Deve-se enfatizar que, sob esse aspecto, a nossa lei é mais protetora da saúde e que alguns países tem apresentado modificações da sua legislação inserindo critérios proibitivos, como na Comunidade Européia (EUROPEAN UNION, 2009). Nesse documento europeu, critérios semelhantes ao da lei brasileira foram adotados, apenas ressaltando que agrotóxicos que os causam podem ser aceitos, caso a exposição seja considerada “desprezível”. Devemos destacar que no contexto brasileiro a exposição aos agrotóxicos não poderia ser considerada desprezível por diversos fatores: elevado consumo, incentivo ao uso, isenções fiscais, falta de orientação no campo, desfavorecimento das técnicas de manejo não químico, dificuldade para o uso e ineficiência dos equipamentos de proteção individual, além de outras situações de vulnerabilidade e de vulnerações impostas as populações expostas aos agrotóxicos.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**

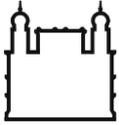


## 9. Conclusões

As informações apresentadas neste parecer mostram que o 2,4-D causou diversos efeitos sobre a saúde em diferentes tipos de estudo realizados com cultura de células de animais e seres humanos, com animais de laboratório e em estudos epidemiológicos com populações expostas a esse agrotóxico, através do trabalho, do ambiente, incluindo o doméstico. Quando um mesmo tipo de dano sobre a saúde (como sobre o sistema reprodutivo, o hormonal etc.) é encontrado em mais de uma espécie animal, o peso das evidências ao afirmar que tais efeitos podem de fato ocorrer nas situações de exposição humana, é muito mais substantivo.

Merece destaque ainda que a realidade do uso de agrotóxicos no Brasil apresenta condições ubíquas de vulnerabilidades sociais, políticas e ambientais e que, além disso, a nossa legislação tem critérios para a permissão de registro diferentes de outros países, pois proíbe o registro de produtos mutagênicos, carcinogênicos, teratogênicos, tóxicos para o sistema reprodutivo e hormonal. **Desse modo, considerar que todos os agrotóxicos permitidos em outros países deveriam ser considerados aptos para uso no Brasil está em desacordo com a nossa legislação, além de ser uma ameaça à soberania nacional, à saúde e ao meio ambiente.**

**Em síntese, o herbicida 2,4-D é teratogênico, carcinogênico, tóxico para o sistema reprodutivo e provoca distúrbios hormonais, como mostrado nos estudos apresentados nesse parecer e que, portanto, deverá ter seu uso suspenso no país, segundo os critérios dispostos na legislação brasileira.**



Ministério da Saúde

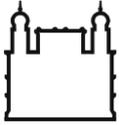
**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



## 10. Referências

1. ADHIKARI N; GROVER IS. Genotoxic effects of some systemic pesticides: in vivo chromosomal aberrations in bone-marrow cells in rats, *Environ. Mol. Mutagen* 12 (1988) 235–242.
2. ALAVANJA MC1, ROSS MK, BONNER MR. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *CA Cancer J Clin.* 2013 Mar-Apr;63(2):120-42.
3. AMER SM; ALY FA. Genotoxic effect of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid and its metabolite 2,4-dichlorophenol in mouse. *Mutat Res.* 2001 Jul 25;494(1-2):1-12.
4. ANVISA, 2014. Monografia 2,4-D. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/bdea3b804745780e857bd53fbc4c6735/D27++24-D.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 01/03/2014.
5. ARBUCKLE TE, LIN Z, MERY LS. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environ Health Perspect.* 2001 Aug;109(8):851-7.
6. ARBUCKLE TE, SCHRADER SM, COLE D, HALL JC, BANCEJ CM, TURNER LA, et al. 1999. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid residues in semen of Ontario farmers. *Reprod Toxicol* 13:421–429.
7. AUGUSTO et al, 2012. Dossiê Abrasco - Um Alerta sobre os Impactos dos Efeitos dos Agrotóxicos na Saúde. Agrotóxicos, saúde, ambiente e sustentabilidade. [acesso em 25 out. 2013]. Disponível em: <http://greco.ppgi.ufrj.br/DossieVirtual/pages/dossie>.
8. BARNEKOW DE; HAMBURG AW; PUVANESARAJAH V; GUO M. (2000). Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in laying hens and lactating goats. *J. Agr. Food Chem.* 49, 156–163.
9. BEYER B, CHERNOFF N, DANIELSSON BR et al (2011) ILSI/HESI maternal toxicity workshop summary: maternal toxicity and its impact on study design and data interpretation. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 92:36–51



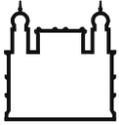
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



10. BOELSTERLI UA; LIM PL. Mitochondrial abnormalities--a link to idiosyncratic drug hepatotoxicity?
11. BOKAN K; SYBERG K; JENSEN K; RANK J. Genotoxic potential of two herbicides and their active ingredients assessed with comet assay on a fish cell line, epithelioma papillosum cyprini (EPC). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 76:1129–1137, 2013.
12. BORTOLOZZI A; FERRI A; EVANGELISTA DE DUFFARD AM; DUFFARD R. Effect of 2,4-D on the levels of serotonin, dopamine and their metabolites in developing rats. *Acta Physiol. Pharmacol. Ther. Latinoam.* 46:157–158; 1996.
13. BORTOLOZZI AA; DUFFARD RO; DUFFARD AME, 1999. Behavioral Alterations Induced in Rats by a Pre- and Postnatal Exposure to 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Neurotoxicology and Teratology*, Vol. 21, No. 4, pp. 451–465, 1999.
14. BORTOLOZZI, A.; DUFFARD, R.; RUBIO, M.; STURTZ, N.; EVANGELISTA DE DUFFARD, A. M. Regionally specific changes in central brain monoamine levels by 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in acute treated rats. *Neurotoxicology* 19:839–852; 1998.
15. BOULAKOUD MS; MOSBAH R; ABDENNOUR C; KHELILI K. The toxicological effects of the herbicide 2,4-DCPA on progesterone levels and mortality in Wistar female rats. *Meded Rijksuniv. Gent Fak Landbouwk. Toegep. Biol. Wet.* 2001;66(2b):891-5.
16. BRADBERRY SM, WATT BE, PROUDFOOT AT, VALE JA. Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000, 38:111-122.
17. BRASIL, Lei n.º 7.802, de 12 de julho de 1989. “lei federal dos agrotóxicos”. Brasília, Diário Oficial da União de 12/07/1989.
18. BRUSCO A; PECCI SAAVEDRA J; GARCIA G; TAGLIAFERRO P; EVANGELISTA DE DUFFARD AM; DUFFARD R. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid through lactation induces astrogliosis in rat brain. *Mol. Chem. Neuropathol.* 30:175–185; 1997.



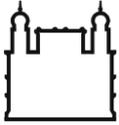
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



19. BUKOWSKA B (2003) Effects of 2,4-D and its metabolite 2,4 dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 135: 435–441.
20. BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2014. Risk assessment. Disponível em: [http://www.bfr.bund.de/en/risk\\_assessment-1833.html](http://www.bfr.bund.de/en/risk_assessment-1833.html). Acesso em: 10/03/2014.
21. BURNS CJ, BEARD KK, CARTMILL JB. Mortality in chemical workers potentially exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1945–94: an update. *Occup Environ Med* 2001, 58:24-30.
22. CANTOR KP; BLAIR A; EVERETT G; GIBSON R; BURMEISTER LF; BROWN LM; SCHUMAN L, DICK FR. Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res.* 1992 May 1;52(9):2447-55.
23. CANTOR KP1, BLAIR A, EVERETT G, GIBSON R, BURMEISTER LF, BROWN LM, SCHUMAN L, DICK FR. Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res.* 1992 May 1;52(9):2447-55.
24. CARNEIRO et al, 2012. Dossiê Abrasco - Um Alerta sobre os Impactos dos Efeitos dos Agrotóxicos na Saúde. Agrotóxicos, segurança alimentar e nutricional e saúde.[acesso em 23 out. 2013]. Disponível em: <http://greco.ppgi.ufrj.br/DossieVirtual/pages/dossie>
25. CAVIERES MF; JAEGER J; PORTER W. Developmental toxicity of a commercial herbicide mixture in mice: I. Effects on embryo implantation and litter size. *Environ Health Perspect.* 2002 Nov;110(11):1081-5.
26. CHAHOUD I, LIGENSA A, DIETZEL L et al (1999). Correlation between maternal toxicity and embryo/fetal effects. *Reprod Toxicol* 13:75–81
27. CHARLES JM, HANLEY TR, WILSON RD, VAN RAVENZWAAY B AND BUS JS (2001) Developmental toxicity studies in rats and rabbits on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its forms. *Toxicological Science* 60: 121–131.



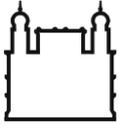
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



28. CHERNOFF N, SETZER RW, MILLER DB et al (1990). Effects of chemically induced maternal toxicity on prenatal development in the rat. *Teratology* 42:651–658
29. CLEMENTS C; RALPH S; PETRAS M. Genotoxicity of select herbicides in *Rana catesbeiana* tadpoles using the alkaline single-cell gel DNA electrophoresis (comet) assay. *Environ Mol Mutagen.* 1997;29(3):277-88.
30. COLBORN T. A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. *Environ Health Perspect* 2006;114:10–7.
31. COLBORN T. Neurodevelopment and endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 2004;112:944–9.
32. COLLINS, TF; WILLIAMS, CH. Teratogenic studies with 2,4,5-T and 2,4-D in hamster. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1971, 6:559-567.
33. COOPER SP; BURAU K; SWEENEY A; ROBISON T; SMITH MA; SYMANSKI E; COLT JS; LASETER J; ZAHM SH. Prenatal Exposure to Pesticides: A Feasibility Study Among Migrant and Seasonal Farmworkers. *AMERICAN JOURNAL OF INDUSTRIAL MEDICINE* 40:578±585 (2001)
34. COX C. (1999). 2,4-D: Toxicology part 2. *J. Pesticide Reform* 19, 14–19.
35. DANIELSSON BR. Maternal Toxicity. In: Paul C. Barrow (ed.), *Teratogenicity Testing: Methods and Protocols*, *Methods in Molecular Biology*, vol. 947, 2013
36. DE DUFFARD AM; DE ALDERETE MN; DUFFARD R. Changes in brain serotonin and 5-hydroxyindolacetic acid levels induced by 2,4-dichlorophenoxyacetic butyl ester. *Toxicology.* 1990 Dec 3;64(3):265-70.
37. DUFFARD AM, BRUSCO A, DUFFARD R, GARCIA G, PECCI SJ. Changes in serotonin-immunoreactivity in the dorsal and median raphe nuclei of rats exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid through lactation. *Mol Chem Neuropathol* 1995, 26:187-193.



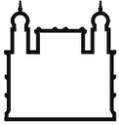
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



38. DUFFARD AM; BORTOLOZZI A; DUFFARD R. Altered behavioral responses in 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid treated and Amphetamine challenged rats. *Neurotoxicology* 16:479–488; 1995.
39. DUFFARD AM; BRUSCO A; DUFFARD R; GARCÍA G; PECCI SAAVEDRA J. Changes in serotonin-immunoreactivity in the dorsal and median raphe nuclei of rats exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid through lactation. *Mol Chem Neuropathol.* 1995 Oct;26(2):187-93.
40. DUFFARD AM; NICOLA DE ALDERETE M; DUFFARD R. Changes in brain serotonin and 5-hydroxyindol-acetic acid levels induced by 2,4-Dichlorophenoxyacetic butyl ester. *Toxicology* 64:265–270; 1990.
41. DUFFARD AM; ORTA C; DUFFARD R. Behavioral changes in rats fed a diet containing 2,4-Dichlorophenoxyacetic butyl ester. *Neurotoxicology* 11:563–572; 1990.
42. DUFFARD R, GARCIA G, ROSSO S, BORTOLOZZI A, MADARIAGA M, DI PO, EVANGELISTA DE DUFFARD AM. Central nervous system myelin deficit in rats exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid throughout lactation. *Neurotoxicol Teratol* 1996, 18:691-696.
43. DUFFARD R, TRAINI L, DE DUFFARD AM. Embryotoxic and teratogenic effects of phenoxy herbicides. *Acta Physiol Lat Am.* 1981;31(1):35-8.
44. DUFFARD, R. O.; MORI DE MORO, G.; EVANGELISTA DE DUFFARD, A. M. Vulnerability of the chick's myelin development to the herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic butyl ester. *Neurochem. Res.* 12:1077–1081; 1987.
45. DUFFARD, R.; GARCIA, G.; ROSSO, S.; BORTOLOZZI, A.; MADARIAGA, M.; DI PAOLO, O.; EVANGELISTA DE DUFFARD, A. M. Central nervous system myelination deficits in rats exposed to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid through lactation. *Neurotoxicol. Teratol.* 18:691–696; 1996.
46. DUFFARD, R.; GARCIA, G.; ROSSO, S.; BORTOLOZZI, A.; MADARIAGA, M.; DI PAOLO, O.; EVANGELISTA DE DUFFARD, A. M. Central nervous system myelination deficits in rats



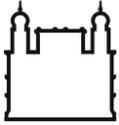
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



- exposed to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid through lactation. *Neurotoxicol. Teratol.* 18:691–696; 1996.
47. EKSTRÖM-SMEDBY K. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma--a review. *Acta Oncol.* 2006;45(3):258-71.
48. ELO H; YLITALO P. Substantial increase in the levels of chlorophenoxyacetic acids in the CNS of rats as a result of severe intoxication. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1977, **41**:280-284.
49. ELO HA, YLITALO P. Distribution of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in male rats: evidence for the involvement of the central nervous system in their toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979, **51**:439-446.
50. ERIKSSON M, HARDELL L, BERG NO, MO'LLER T, AXELSON O. Soft tissue sarcomas and exposure to chemical substances: A case-referent study. *Br J Ind Med* 1981;/38:/27
51. EUROPEAN UNION. Regulation (EC) n° 1107/2009 of the European Parliament and the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. *Official Journal of the European Union.* 2009 Nov. 24; 52(L309): 1-50.
52. EVANGELISTA DE DUFFARD AM; BRUSCO A; DUFFARD R; GARCÍA G; PECCI SAAVEDRA J. Changes in serotonin-immunoreactivity in the dorsal and median raphe nuclei of rats exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid through lactation. *Mol Chem Neuropathol.* 1995 Oct;26(2):187-93.
53. EVETTS KD; URETSKY NJ; IVERSEN LL; IVERSEN SD. Effects of 6-hydroxydopamine treatments on active avoidance responding: Evidence for involvement of brain dopamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 185:358–370; 1970.
54. FAUSTINI A; SETTIMI L; PACIFICI R; FANO V; ZUCCARO P; FORASTIERE F. Immunological changes among farmers exposed to phenoxy herbicides: preliminary observations. *Occup Environ Med.* 1996 Sep;53(9):583-5.



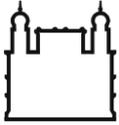
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



55. FAUSTMAN; OMENN, 2001. Risk Assessment. In: Klaassen, CD. Casarett & Doull's Toxicology. The basic science of poisons. Mc Graw Hill Companies Inc, 2001.
56. FLORSHEIM, W.H. & VELCOFF, S.M. (1962) Some effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on thyroid function in the rat: Effects on iodine accumulation. *Endocrinology*, 71(1): 1-6.
57. FLORSHEIM, W.H., VELCOFF, S.M., & WILLIAMS, A.D. (1963) Some effects of 2,4-D on thyroid function in the rat: Effects on peripheral thyroxine. *Endocrinology*, 72: 327-333.
58. FOFANA D; KOBAE H; SAMESHIMA K; MIYATA K. Postnatal survival of rat offspring prenatally exposed to pure 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Congenit Anom (Kyoto)*. 2002 Mar;42(1):32-5.
59. FOFANA D; KOBAE H; SAMESHIMA K; MIYATA K. Postnatal survival of rat offspring prenatally exposed to pure 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Congenit Anom (Kyoto)*. 2002 Mar;42(1):32-5.
60. FRIEDRICH, 2013. Desafios para a avaliação toxicológica de agrotóxicos no Brasil: desregulação endócrina e imunotoxicidade. *Vigilância Sanitária em Debate* 1(2): 2-15, 2013.
61. GARAJ-VRHOVAC V1, ZELJEZIC D. Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and Comet assay. *J Appl Toxicol*. 2002 Jul-Aug;22(4):249-55.
62. GARRY VF, TARONE RE, KIRSCH IR, ABDALLAH JM, LOMBARDI DP, LONG LK, BURROUGHS BL, BARR DB, KESNER JS. Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption. *Environ Health Perspect*. 2001 May;109(5):495-500.
63. GONZÁLEZ M; SOLONESKI S; REIGOSA M; LARRAMENDY, M.L. 2005. Genotoxicity of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic and a commercial formulation, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dimethylamine salt. I. Evaluation of DNA damage and cytogenetic endpoints in Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol. In Vitro* 19: 289-297.



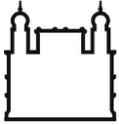
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



64. GREENLEE AR, ELLIS TM, BERG RL. Low-dose agrochemicals and lawn-care pesticides induce developmental toxicity in murine preimplantation embryos. *Environ Health Perspect.* 2004 May;112(6):703-9.
65. HARDELL L. Pesticides, soft-tissue sarcoma and non-Hodgkin lymphoma--historical aspects on the precautionary principle in cancer prevention. *Acta Oncol.* 2008;47(3):347-54.
66. HARDELL L. Soft-tissue sarcomas and exposure to phenoxy acids: A clinical observation. *La kartidningen* 1977;/74:/2753-4.
67. HOAR SK, BLAIR A, HOLMES FF, BOYSEN CD, ROBEL RJ, HOOVER R, FRAUMENI JF JR. Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. *JAMA.* 1986 Sep 5;256(9):1141-7.
68. HOLSON, R. R.; GAZZARTA, R. A.; FERGUSON, S. A.; ADAMS, J.: Behavioral effects of low-dose gestational day 11-13 retinoic acid exposure. *Neurotoxicol. Teratol.* 19:355-362; 1997.
69. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). CHLOROPHENOXY HERBICIDES (Group 2B). Monographs supplement 7, 1987.
70. INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 29. 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID (2,4-D). World Health Organization - Geneva, 1984. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc29.htm#SectionNumber:6.1>. Acesso em: 01/12/2013
71. INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. Guidance for immunotoxicity risk assessment for chemicals. Geneva:
72. JUREWICZ J; HANKE W; SOBALA W; LIGOCKA D. Exposure to phenoxyacetic acid herbicides and predictors of exposure among spouses of farmers. *Ann Agric Environ Med.* 2012 Mar 23;19(1):51-6.



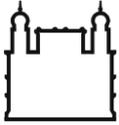
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



73. KAVLOCK RJ, CHERNOFF N, ROGERS EH (1985). The effect of acute maternal toxicity on fetal development in the mouse. *Teratog Carcinog Mutagen* 5:3–13
74. KIM CS; KEIZER RF; PRITCHARD J B. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid intoxication increases its accumulation within the brain. *Brain Res.* 440:216–226; 1988.
75. KIM HJ; KIM WD; KWON TH; KIM DH; PARK Y I; DONG MS. (2002). Mechanism of phenoxy compounds as an endocrine disruptor. *J. Toxicol. Pub. Health* 18, 331–339.
76. KIM HJ; PARK Y; DONG MS. Effects of 2,4-D and DCP on the DHT-induced androgenic action in human prostate cancer cells. *Toxicol Sci.* 2005 Nov;88(1):52-9. Epub 2005 Aug 17.
77. KIOUSSIS D; PACHNIS V. Immune and nervous systems: more than just a superficial similarity? *Immunity.* 2009; 31(5):705-10.
78. KOWALTOWSKI AJ, VERCESI AE (1999) Mitochondrial damage induced conditions of oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 463–471.
79. LAVOIE JC, CHESSEX P (1997) Gender and maturation affect glutathione status in human neonatal tissues. *Free Radical Biology and Medicine* 23: 648–657.
80. LERDA D1, RIZZI R. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Mutat Res.* 1991 Jan;262(1):47-50.
81. MAIRE MA; RAST C; LANDKOCZ Y; VASSEUR P. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid: Effects on Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation, c-Myc expression, DNA damage and apoptosis. *Mutation Research* 631 (2007) 124–136
82. MASTORAKIS G, KAROUTSOU EI, MIZAMTSIDI M, CREATSAS G. The menace of endocrine disruptors on thyroid hormone physiology and their impact on intrauterine development. *Endocr* 2007, 31:219-237.
83. MAZHAR FM; MOAWAD KM; EL-DAKDOKY MH; AMER AS. Fetotoxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats and the protective role of vitamin E. *Toxicol Ind Health.* 2012.



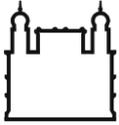
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



84. MILIGI L; COSTANTINI AS; VERALDI A; BENVENUTI A; WILL VP. Cancer and pesticides: an overview and some results of the Italian multicenter case-control study on hematolymphopoietic malignancies. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Sep;1076:366-77.
85. MORGAN MK, SHELDON LS, THOMAS KW, EGEHY PP, CROGHAN CW, JONES PA, CHUANG JC, WILSON NK. Adult and children's exposure to 2,4-D from multiple sources and pathways. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2008 Sep;18(5):486-94.
86. MORI DE MORO G, DUFFARD R, EVANGELISTA DE DUFFARD AM. Neurotoxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic butyl ester in chick embryos. *Neurochem Res* 1993, 18:353-359.
87. NAKBI A, TAYEB W, DABBOU S, ISSAOUI M, GRISSA AK, ATTIA N, et al. (2010) Dietary olive oil effect on antioxidant status and fatty acid profile in the erythrocyte of 2,4-D exposed rats. *Lipids in Health Disease* 9: 89–99.
88. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. OECD Series on principles of good laboratory practice and compliance monitoring, 1998.
89. RIBEIRO LR, SALVADORI DMF, MARQUES EK (2003) Teste do micronúcleo em células humanas *in vitro*. In: *Mutagênese Ambiental*. Ed ULBRA, p.201-223.
90. RIGOTTO et al, 2012. Dossiê Abrasco - Um Alerta sobre os Impactos dos Efeitos dos Agrotóxicos na Saúde. Agrotóxicos, conhecimento científico e popular: construindo a ecologia de saberes. [acesso em 23 out. 2013]. Disponível em: <http://greco.ppgi.ufrj.br/DossieVirtual/pages/dossie>
91. ROMAN GC. Autism: Transient in utero hypothyroxinemia related to maternal flavonoid ingestion during pregnancy and to other environmental antithyroid agents. *Journal of the Neurological Sciences* 262 (2007) 15–26
92. ROSSO SB, DI PAOLO OA, EVANGELISTA DE DUFFARD AM, DUFFARD R. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on central nervous system of developmental rats. Associated changes in ganglioside pattern. *Brain Res* 1997, 769:163-167.



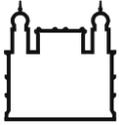
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



93. SADAMATSU M, KANAI H, XU X, LIU Y, KATO N. Review of animal models for autism: implication of thyroid hormone. *Congenit Anom* 2006;46:1-9.
94. SALVADORI DMF; MARQUES EK; RIBEIRO LR. *Mutagenese Ambiental*. Ed. ULBRA, 355p., 2003.
95. SANDBERG JA, DUHART HM, LIPE G, BINIENDA Z, SLIKKER W JR, KIM CS. Distribution of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in maternal and fetal rabbits. *J Toxicol Environ Health*. 1996 Dec 6;49(5):497-509.
96. SCHREINEMACHERS DM. Birth malformations and other adverse perinatal outcomes in four U.S. Wheat-producing states. *Environ Health Perspect*. 2003 Jul;111(9):1259-64.
97. SCHREINEMACHERS DM. Birth malformations and other adverse perinatal outcomes in four U.S. Wheat-producing states. *Environ Health Perspect*. 2003 Jul;111(9):1259-64.
98. SCHREINEMACHERS DM. Perturbation of lipids and glucose metabolism associated with previous 2,4-D exposure: a cross-sectional study of NHANES III data, 1988-1994. *Environ Health*. 2010 Feb 26;9:11.
99. SCHREINEMACHERS DM. Perturbation of lipids and glucose metabolism associated with previous 2,4-D exposure: a cross-sectional study of NHANES III data, 1988-1994. *Environ Health*. 2010 Feb 26;9:11.
100. SELGRADE MK. Use of immunotoxicity data in health risk assessments: uncertainties and research to improve the process. *Toxicology*. 1999; 133(1):59-72.
101. SEXTON K. Sociodemographic aspects of human susceptibility to toxic chemicals: Do class and race matter for realistic risk assessment? *Environ Toxicol Pharmacol*. 1997 Dec;4(3-4):261-9.
102. SEXTON K; LINDER SH. The role of cumulative risk assessment in decisions about environmental justice. *Int J Environ Res Public Health*. 2010 Nov;7(11):4037-49.



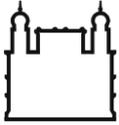
Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



- 103.SOLONESKI S; GONZÁLEZ NV; REIGOSA MA; LARRAMENDY ML. Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-induced cytogenetic damage in human lymphocytes in vitro in presence of erythrocytes. *Cell Biol Int* 2007;31:1316–1322.
- 104.STURTZ N; BONGIOVANNI M; RASSETTO A; FERRI AM; EVANGELISTA DE DUFFARD, R. DUFFARD Detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rat milk of dams exposed during lactation and milk analysis of their major components. *Food and Chemical Toxicology* 44 (2006) 8–16.
- 105.STÜRTZ N; EVANGELISTA DE DUFFARD AM; DUFFARD R. Detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) residues in neonates breast-fed by 2,4-D exposed dams. *Neurotoxicology*. 2000 Feb-Apr;21(1-2):147-54.
- 106.STÜRTZ N; JAHN GA; DEIS RP; RETTORI V; DUFFARD RO; EVANGELISTA DE DUFFARD AM. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on milk transfer to the litter and prolactin release in lactating rats. *Toxicology*. 2010 Apr 30;271(1-2):13-20.
- 107.SULIK M; PIŁAT-MARCINKIEWICZ B; SULIK A; BARWIJUK-MACHAŁA M; SULKOWSKA M; BALTAZIAK M; KLEPACKA J. Fetotoxic effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rats. *Rocz Akad Med Białymst*. 1998;43:298-308.
- 108.SWAN SH, KRUSE RL, LIU F, BARR DB, DROBNIS EZ, REDMON JB, et al. 2003. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect* 111:1478–1484 .
- 109.TAYEB W, NAKBI A, CHARGUI I, CHERAIEF I, MILED A AND HAMMAMIM (2011) Subacute effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic herbicide on antioxidant defense system and lipid peroxidation in rat erythrocytes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99: 256–264.
- 110.VAINIO H, LINNAINMAA K, KÄHÖNEN M, NICKELS J, HIETANEN E, MARNIEMI J. Hypolipidemia and peroxisome proliferation induced by phenoxyacetic acid herbicides in rats. *Biochem Pharmacol* 1983, 32:2775-2779.



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

**Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde**



111. VAN DEN BERG KJ, VAN RAAIJ JAGM, BRAGT PC, NOTTEN WRF. Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels in vivo. *Arch Toxicol* 65:15–19 (1991).
112. WANG X, FALCONE T, ATTARAN M, GOLDBERG JM, AGARWAL A AND SHARMA RK (2002) Vitamin C and Vitamin E supplementation reduce oxidative stress–induced embryo toxicity and improve the blastocyst development rate. *Fertility and Sterility* 78(6): 1272–1277.
113. WILSON NK, STRAUSS WJ, IROZ-ELARDO N, CHUANG JC. Exposures of preschool children to chlorpyrifos, diazinon, pentachlorophenol, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid over 3 years from 2003 to 2005: A longitudinal model. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2010 Sep;20(6):546-58.
114. ZAHM SH; WEISENBURGER DD; BABBITT PA; SAAL RC; VAUGHT JB; CANTOR KP; BLAIR A. A case-control study of non-Hodgkin's lymphoma and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in eastern Nebraska. *Epidemiology*. 1990 Sep;1(5):349-56.