



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GABRIELA REIGOTA BLANCO

**AVALIAÇÃO DO EPITÉLIO PULMONAR EM RATOS SUBMETIDOS AO
MALATION**



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GABRIELA REIGOTA BLANCO

**AVALIAÇÃO DO EPITÉLIO PULMONAR EM RATOS SUBMETIDOS AO
MALATION**

Exame Geral de Qualificação apresentado à
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação,
Universidade do Oeste Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Ciências da Saúde – Área de
concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Renata Calciolari Rossi

Catálogo Internacional na Publicação (CIP)

636.089 Blanco, Gabriela Reigota
B641a Avaliação do epitélio pulmonar em ratos submetidos ao malation \ Gabriela Reigota Blanco; orientadora Renata Calciolari Rossi – Presidente Prudente, 2023.
42 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2023.
Bibliografia.

1. Inseticidas. 2. Ratas Wistar. 3. Sistema Respiratório. 4. Malation. 5. Intoxicação. I. Rossi, Renata Calciolari, orient. II. Título.

GABRIELA REIGOTA BLANCO

**AVALIAÇÃO DO EPITÉLIO PULMONAR EM RATOS SUBMETIDOS AO
MALATION**

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. – Área de concentração: Ciências da Saúde

Presidente Prudente, 22 de setembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Renata Calciolari Rossi
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof.^a Dr.^a Ana Karina Marques Salge Mendonça
Universidade Federal de Goiás
Goiânia - GO

Prof.^a Dr.^a Daniela Vanessa Moris
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que é minha força e meu guia, e a minha chefe Dra. Elza que sempre me impulsiona para o crescimento profissional e pessoal.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela chance de elaborar um trabalho que pode contribuir para o conhecimento e promoção de saúde.

Agradeço a minha orientadora Renata Calciolari Rossi, por toda ajuda e orientação para conduzir nosso trabalho de pesquisa.

Aos meus pais e irmão pela paciência e companheirismo dedicado a mim nesse tempo de estudo.

Agradeço as minhas amigas da faculdade, que são companheiras de jornada, portando estão sempre ao meu lado me apoiando.

Agradeço a Dra. Elza Akiko Natsumeda Utino por sempre me colocar em um bom caminho, me ajudando a ser sempre uma profissional melhor.

A todos os meus chefes e professores que me ajudaram a concluir esse trabalho de pesquisa.

Agradeço a Universidade do Oeste Paulista por proporcionar toda oportunidade de crescimento e aprimoramento da carreira profissional.

RESUMO

Avaliação do epitélio pulmonar em ratos submetidos ao malation

O consumo de agrotóxicos no Brasil vem crescendo cada vez mais, provocando alterações na saúde humana e nos ecossistemas. Podemos identificar impactos na saúde tanto de trabalhadores, como consumidores dos alimentos contaminados com resíduos, sendo os aplicadores dos produtos os mais atingidos. A maior utilização de agrotóxicos organofosforados acontece na agricultura, mas também são utilizados em saúde pública. O malation é um dos organofosforados mais utilizados no Brasil, possui grande utilidade nas áreas rurais e urbanas. A ação tóxica dos compostos organofosforados está relacionada à inibição de numerosas enzimas. A inibição da acetilcolina ocorre através do processo de fosforilação do grupo hidroxila do resíduo de serina da enzima. A hidrólise do neurotransmissor acetilcolina estará comprometida, levando ao acúmulo deste neurotransmissor nas sinapses do sistema nervoso central e periférico, promovendo uma hiperestimulação dos receptores muscarínicos e nicotínicos (receptores colinérgicos) desencadeando uma variedade de sinais e sintomas que caracterizam a “síndrome colinérgica”. O presente estudo teve como objetivo analisar as alterações do epitélio pulmonar em ratos submetidos ao inseticida organofosforado, Malation, através da análise histopatológica do epitélio pulmonar de ratos submetidos ao Malation por via oral. Foram utilizados 30 ratos fêmeas da linhagem Wistar, com idade inicial de 21 dias, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Protocolo CEUA- 7109. Os animais foram distribuídos casualmente em três grupos experimentais (n = 10). Dois grupos de animais foram tratados com Malation nas doses de 10 mg/kg ou 50 mg/kg de peso corpóreo via gavagem. Essas doses correspondem a 0,5% e 2,5%, respectivamente da DL50 oral para ratos (DL50 oral = 2000 mg/kg) (U S EPA, 200). O outro grupo (grupo controle) recebeu apenas o veículo (óleo de soja) em igual volume. Os resultados foram obtidos através das seguintes análises; células caliciformes; área do bronquíolo, área da luz, espessura da camada muscular e score de inflamação. Observamos aumento das células caliciformes no grupo M50, apesar de não termos identificado valor com significância estatística, os resultados foram apresentados em média, com $p < 0,05$. Em relação a área da luz do bronquíolo houve redução da área no grupo que recebeu maior

dosagem de malation, porém sem valor estatístico. Em relação à área do bronquíolo identificamos aumento da área no grupo M10, comparado tanto com o controle quanto com o M50, com valor estatístico. Em relação à espessura da camada muscular observamos aumento da espessura nos dois grupos que receberam malation, porém sem valor estatístico. Na avaliação do score de inflamação constatamos aumento do score no grupo M50, com significância estatística. Os resultados do presente estudo demonstraram que a exposição ao malation provoca alterações na histologia pulmonar, como por exemplo, a presença de inflamação dos bronquíolos, comprovada pelo aumento do score de inflamação no grupo que recebeu maior dosagem malation. Além disso, verificamos também aumento das células calciformes, aumento da área dos bronquíolos, redução da área da luz e alteração da espessura da camada muscular, porém não comprovamos valores de significância estatística. Desse modo, nota-se a importância em realizar novas pesquisas em relação ao tema abordado, para que consigamos maiores dados para implementação de alternativas que evidentemente são mais seguras, tanto para o meio ambiente e para a população.

Palavras-chave: Inseticidas. Ratas Wistar. Sistema Respiratório. Malation. Organofosforado.

ABSTRACT

Evaluation of the pulmonary epithelium in rats treated with malation.

The consumption of pesticides in Brazil has been growing more and more, causing changes in human health and ecosystems. We can identify impacts on the health of both workers and consumers of food contaminated with residues, with product applicators being the most affected. The greatest use of organophosphate pesticides is in agriculture, but they are also used in public health. Malathion is one of the most used organophosphates in Brazil, it has great utility in rural and urban areas. The toxic action of organophosphate compounds is related to the inhibition of numerous enzymes. Inhibition of acetylcholine occurs through the process of phosphorylation of the hydroxyl group of the serine residue of the enzyme. The hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine will be compromised, leading to the accumulation of this neurotransmitter in the synapses of the central and peripheral nervous system, promoting a hyperstimulation of the muscarinic and nicotinic receptors (cholinergic receptors) triggering a variety of signs and symptoms that characterize the "cholinergic syndrome". The present study aimed to analyze changes in the pulmonary epithelium in rats submitted to the organophosphate insecticide, Malathion, through histopathological analysis of the pulmonary epithelium of rats submitted to Malathion orally. Thirty female Wistar rats were used, with an initial age of 21 days, from the Central Animal Facility of the State University of Londrina – UEL, Protocol CEUA-7109. The animals were randomly distributed into three experimental groups (n = 10). Two groups of animals were treated with Malathion at doses of 10 mg/kg or 50 mg/kg of body weight via gavage. These doses correspond to 0.5% and 2.5%, respectively, of the oral LD50 for rats (oral LD50 = 2000 mg/kg) (US EPA, 200). The other group (control group) received only the vehicle (soybean oil) in equal volume. The results were obtained through the following analyses; goblet cells; bronchiole area, lumen area, muscle layer thickness and inflammation score. We observed an increase in goblet cells in the M50 group, although we did not identify a statistically significant value, the results were presented as an average, with $p < 0.05$. Regarding the area of the bronchiole lumen, there was a reduction in the area in the group that received the highest dose of malathion, but without statistical value.

Regarding the bronchiole area, we identified an increase in the area in the M10 group, compared with both the control and the M50 group, with statistical value. Regarding the thickness of the muscle layer, we observed an increase in thickness in the two groups that received malathion, but without statistical value. In the evaluation of the inflammation score, we found an increase in the score in the M50 group, with statistical significance. The results of the present study demonstrated that exposure to malathion causes alterations in lung histology, such as the presence of inflammation of the bronchioles, as evidenced by the increase in the inflammation score in the group that received the highest malathion dose. We observed an increase in goblet cells in the M50 group, although we did not identify a statistically significant value, the results were presented as an average, with $p < 0.05$. Regarding the area of the bronchiole lumen, there was a reduction in the area in the group that received the highest dose of malathion, but without statistical value. Regarding the bronchiole area, we identified an increase in the area in the M10 group, compared with both the control and the M50 group, with statistical value. Regarding the thickness of the muscle layer, we observed an increase in thickness in the two groups that received malathion, but without statistical value. In the evaluation of the inflammation score, we found an increase in the score in the M50 group, without statistical significance. The results of the present study demonstrated that exposure to malathion causes alterations in lung histology, such as the presence of inflammation of the bronchioles, as evidenced by the increase in the inflammation score in the group that received the highest malathion dose. In addition, we also found an increase in goblet cells, an increase in the area of the bronchioles, a reduction in the lumen area and changes in the thickness of the muscle layer, but we did not prove statistically significant values. Thus, it is important to carry out new research in relation to the topic addressed, so that we can obtain more data to implementation of alternatives that are evidently safer, both for the environment and for the population.

Key-words: Insecticides. Rats Wistar. Respiratory System. Malathion. Organophosphate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Éster dietil dimetoxifosfinotiol	17
Figura 2 - Visualização do bronquíolo e alvéolos, corados com hematoxilina eosina, com aumento 400x (A). Brônquíolo e alvéolos corados com hematoxilina e eosina, com aumento 1000x (B)	20
Figura 3 - Comparação entre as médias dos animais que receberam malation e o aumento das células calciformes	21
Figura 4 - Comparação entre o grupo controle com as diferentes dosagens de malation em relação à área do bronquíolo	22
Figura 5 - Comparação entre as diferentes dosagens de malation em relação à área da luz do bronquíolo	23
Figura 6 - Comparação do aumento da espessura da camada muscular com as dosagens de malation	24
Figura 7 - Comparação dos grupos em relação ao score de inflamação	24

SUMÁRIO

1 ARTIGO: AVALIAÇÃO DO EPITÉLIO PULMONAR EM RATOS SUBMETIDOS	
AO MALATION	12
INTRODUÇÃO	16
MÉTODOS	19
Aspectos de natureza ética	19
Delineamento experimental.....	19
Coleta dos materiais	19
Análise dos dados.....	20
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO	25
CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS.....	29
ANEXOS	33
ANEXO A - APROVAÇÃO DO TRABALHO PELO COMITÊ ÉTICA	33
ANEXO B – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIENTÍFICA A QUAL O	
ARTIGO SERÁ SUBMETIDO	34

1 ARTIGO: Avaliação do epitélio pulmonar em ratos submetidos ao malation

Evaluation of the pulmonary epithelium in rats treated with malation

Epitélio pulmonar de ratos submetidos ao malation

Gabriela Reigota Blanco¹, Ana Karina Marques Salge³, Ana Paula Alves Favareto⁴, Débora Tavares de Resende e Silva⁵, Francis Lopes Pacagnelli⁶, Glaura Scatamburlo Alves Fernandes⁷, Renata Calciolari Rossi⁸

¹ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0002-7751-5729>

² Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0003-2718-1625>

³ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0001-8634-9198>

⁴ Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, SC, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0002-3813-7139>

⁵ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0002-3813-7139>

⁶ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0002-6043-1131>

⁷ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0002-3311-064X>

⁸ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.
<https://orcid.org/0000-0002-3311-064X>

Requisitos de Autoria:

Contribuição substancial no esboço do estudo ou na interpretação dos dados:

G.R.B.; A.K.M.S.; A.P.A.F.; D.T.R.S.; F.L.P.; G.S.A.F.; R.C.R.

Participação na redação da versão preliminar: G.R.B.; A.K.M.S.; A.P.A.F.; D.T.R.S.; F.L.P.; G.S.A.F.; R.C.R.

Participação na revisão e aprovação da versão final: G.R.B.; A.K.M.S.; A.P.A.F.; D.T.R.S.; F.L.P.; G.S.A.F.; R.C.R.

Conformidade em ser responsável pela exatidão ou integridade de qualquer parte do estudo: G.R.B.; A.K.M.S.; A.P.A.F.; D.T.R.S.; F.L.P.; G.S.A.F.; R.C.R.

Autor correspondente:

Renata Calciolari Rossi

Universidade do Oeste Paulista – Rua José Bongiovani, 700 – Cidade Universitária
CEP: 19050-680 – Presidente Prudente – São Paulo – Brasil.

E-mail: renatacalciolari@terra.com.br

Fontes de apoio: Universidade do Oeste Paulista.

Agradecimentos: Sem agradecimentos.

Este trabalho será submetido à revista Medicina Qualis A3.

RESUMO

Introdução: A maior utilização de agrotóxicos organofosforados acontece na agricultura, mas também são utilizados em saúde pública, na eliminação e controle de vetores transmissores de enfermidades endêmicas. O malation é um dos organofosforados mais utilizados no Brasil, possui grande utilidade nas áreas rurais e urbanas. A ação tóxica dos compostos organofosforados está relacionada à inibição de da enzima acetilcolinesterase. A hidrólise do neurotransmissor acetilcolina estará comprometida, levando ao acúmulo deste neurotransmissor nas sinapses do sistema nervoso central e periférico, promovendo uma hiperestimulação dos receptores muscarínicos e nicotínicos, provocando sinais e sintomas que caracterizam a “síndrome colinérgica”. **Objetivo:** analisar as alterações do epitélio pulmonar em ratos submetidos por via oral ao inseticida, Malation, através da análise histopatológica. **Métodos:** Foram utilizados 30 ratos fêmeas da linhagem Wistar, com idade inicial de 21 dias, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina – UEL, Protocolo CEUA- 7109. Os animais foram distribuídos casualmente em três grupos experimentais (n = 10). Dois grupos de animais foram tratados com Malation nas doses de 10 mg/kg ou 50 mg/kg de peso corpóreo via gavagem. Essas doses correspondem a 0,5% e 2,5%, respectivamente da DL50 oral para ratos (DL50 oral = 2000 mg/kg) (U S EPA, 200). O outro grupo (grupo controle) recebeu apenas o veículo (óleo de soja) em igual volume. Resultados apresentados em média (desvio padrão), $p < 0,05$, Teste de ANOVA de 2 fatores. **Resultados:** Os resultados foram obtidos através de análise histopatológica. Embora tenha existido um aumento das células caliciformes no grupo M50, não tivemos valores significativos, pois as médias foram próximas. Em relação à área do bronquíolo comparando o grupo controle com o M10 tivemos um aumento da área, considerado valor significativo. Na comparação entre o grupo controle e o M50, não tivemos valores significativos, as médias estão próximas. Em relação à área da luz quase não observamos diferença nas médias dos grupos, porém com redução no grupo M50, constatamos aumento da espessura da camada muscular no grupo M50 e aumento do score de inflamação. **Conclusão e implicações para prática:** Os resultados do presente estudo demonstraram que a exposição ao malation provoca alterações na histologia pulmonar, como por exemplo, a presença de inflamação dos bronquíolos, comprovada pelo aumento do score de inflamação no grupo que recebeu maior dosagem malation. Além disso, verificamos também aumento das células caliciformes, aumento da área dos bronquíolos, redução da área da luz e alteração da espessura da camada muscular, porém não comprovamos valores de significância estatística. Desse modo, nota-se a importância em realizar novas pesquisas em relação ao tema abordado, para que consigamos maiores dados para implementação de alternativas que evidentemente são mais seguras, tanto para o meio ambiente e para a população.

Palavras-chave: Inseticidas; Ratas; Sistema Respiratório; Malation; Organofosforado.

ABSTRACT

Introduction: The greatest use of organophosphate pesticides occurs in agriculture, but they are also used in public health, in the elimination and control of vectors that transmit endemic diseases. Malathion is one of the most used OFs in Brazil, it is very useful in rural and urban areas in a variety of situations (eradication of insects, ants and even lice). The toxic action of OFs compounds is related to the inhibition of the enzyme acetylcholinesterase, causing signs and symptoms that characterize the “cholinergic syndrome”. **Purpose:** to analyze alterations in the pulmonary epithelium in rats submitted to the organophosphate insecticide, Malathion, through histopathological analysis of the pulmonary epithelium of rats submitted to Malathion orally. **Methods:** Thirty female Wistar rats were used, with an initial age of 21 days, from the Central Animal Facility of the State University of Londrina – UEL, Protocol CEUA-7109. The animals were randomly distributed into three experimental groups (n = 10). Two groups of animals were treated with Malathion at doses of 10 mg/kg or 50 mg/kg of body weight via gavage. These doses correspond to 0.5% and 2.5%, respectively, of the oral LD50 for rats (oral LD50 = 2000 mg/kg) (US EPA, 200). The other group (control group) received only the vehicle (soybean oil) in equal volume. **Results:** The results were obtained through the analyses; goblet cells; bronchiole area, lumen area, muscle layer thickness and inflammation score. Although there was an increase in goblet cells in the M50 group, we did not have significant values, as the averages were similar. Regarding the area of the bronchiole, comparing the control group with the M10, we had an increase in the area, considered a significant value. In the comparison between the control group and the M50, we did not have significant values, the averages are close. Regarding the lumen area, we observed almost no difference in the means of the groups, but with a reduction in the M50 group, we found an increase in the thickness of the muscle layer in the M50 group and an increase in the inflammation score. **Conclusion and implications for practice:**

Key-words: Insecticides; Rats; Respiratory System; Malathion; Organophosphate.

INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxicos no Brasil tem aumentado cada vez mais, provocando alterações na saúde humana e nos ecossistemas. Os impactos na saúde podem chegar a atingir tanto os trabalhadores, como os consumidores dos alimentos contaminados com resíduos, sendo os aplicadores dos produtos os mais atingidos. Alguns problemas podem ser causados pela exposição aos agrotóxicos, como por exemplo, doenças respiratórias (bronquite asmática) e efeitos gastrointestinais. E para alguns compostos como organofosforados e organoclorados existem os distúrbios musculares, debilidade motora e fraqueza¹⁻².

Em 1920 foi dado início a utilização de agrotóxicos na agricultura, porém pouco se sabia sobre os efeitos colaterais. Em torno de 1960 os agrotóxicos foram utilizados mais intensamente na agricultura, anteriormente eles foram utilizados para programas de saúde pública, como combate a vetores e controle de parasitas³.

Sabe-se que 20% do mercado mundial de agrotóxicos é composto pelos países em desenvolvimento, dessa forma, o Brasil se destaca como o maior mercado individual, representando 35% do montante. O Brasil está classificado no mercado como o maior consumidor de agrotóxicos por hectare no mundo⁴⁻⁵.

O consumo de pesticida aumentou consideravelmente no Brasil, levando a ocupar o quarto país em nível mundial na categoria de consumo de agrotóxicos. De acordo com a visão histórica a população está mais exposta aos agrotóxicos, devido ao aumento de consumo de alimentos de origem agropecuária e também pelo contato direto em aplicadores rurais ou manipuladores. Vale ressaltar também as tentativas de suicídios, ou por contato indireto, como em populações que necessitam da utilização de agrotóxicos para o controle de vetores nas endemias⁶⁻⁸.

Os pesticidas são classificados de acordo com a sua natureza química e função. Em relação a natureza química são divididos em orgânicos e inorgânicos⁹. Os inseticidas orgânicos, conforme o mecanismo de ação são divididos em inibidores de colinesterase (organofosforados e carbamatos), piretrinas, piretroides e organoclorados. Já os inseticidas inorgânicos não contém nenhum átomo de carbono em sua estrutura química e podem ser classificados em arsenicais, fluorados e miscelânea. Estes quase não são utilizados devido ao alto risco no meio ambiente, elevada toxicidade, baixo controle dos insetos e não possuem antídoto^{7,10-11}.

Devido à praticidade dos organofosforados, começaram a ser mais utilizados, pois degradam rapidamente no meio ambiente, causando impacto ambiental menos significativo. Os inseticidas inibidores das colinesterases classificados como organofosforados, são absorvidos pela pele, ingestão ou por inalação⁹.

Éster dietil dimetoxifosfotiol (Malation)

O malation (éster dietil dimetoxifosfotiol – Figura 1) é um dos OFs mais utilizados no Brasil, possui grande utilidade nas áreas rurais e urbanas em uma variedade de situações (erradicações de insetos, formigas e até piolhos). Ele é amplamente utilizado devido a sua alta eficácia como inseticida e sua baixa toxicidade em mamíferos quando comparado a outros OFs. No entanto, algumas impurezas presentes na sua formulação podem aumentar a toxicidade¹².

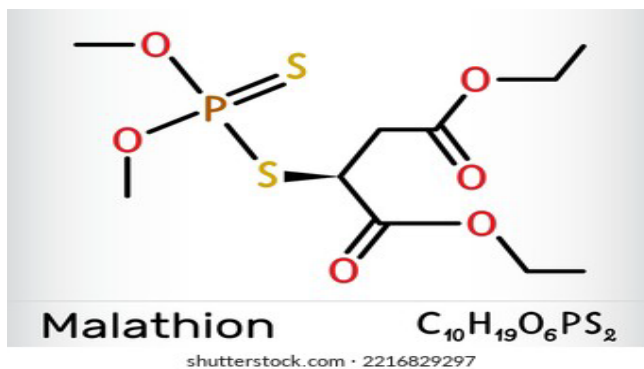


Figura 1: Éster dietil dimetoxifosfinotiol

Existe a inibição da enzima colinesterase, especialmente acetilcolinesterase, causando o acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, levando a uma série de efeitos parassimpaticomiméticos. A inibição da colinesterase por meio dos compostos fosforados provoca o acúmulo de acetilcolina e o organismo começa a apresentar muitas manifestações, tais como, os efeitos muscarínicos, nicotínicos e centrais. A ação da colinesterase é derivada de duas enzimas. Uma encontrada na membrana dos eritrócitos (colinesterase eritrocitária ou acetilcolinesterase), e outra sérica (colinesterase plasmática ou butiril-colinesterase). A redução da colinesterase plasmática pode durar por trinta dias e das hemácias por noventa dias após o último contato com os fosforados orgânicos¹³⁻¹⁵.

A ação tóxica dos compostos OFs está relacionada à inibição de numerosas enzimas. A inibição da AChE ocorre através do processo de fosforilação do grupo hidroxila do resíduo de serina da enzima. Dessa forma, a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) estará comprometida, levando ao acúmulo deste neurotransmissor nas sinapses do sistema nervoso central e periférico. Desta forma, haverá uma hiperestimulação dos receptores muscarínicos e nicotínicos (receptores colinérgicos) desencadeando uma variedade de sinais e sintomas que caracterizam a “síndrome colinérgica”¹⁶⁻¹⁸.

Efeitos da exposição aos agrotóxicos

A maior utilização dessas substâncias acontece na agricultura, mas também são utilizados em saúde pública, na eliminação e controle de vetores transmissores de enfermidades endêmicas como; doença de Chagas, Malária e Dengue¹⁹.

Segundo Domingues et al.¹⁹ em 2004 já existia no Brasil cerca de 300 ingredientes ativos e 2000 formulações de agrotóxicos.

O governo brasileiro não está dando a atenção adequada ao problema de intoxicação ocupacional por agrotóxicos, e ao mesmo tempo incentivando o aumento da produção agrícola, pois a exportação de produtos agropecuários é responsável por uma grande parte da balança comercial brasileira. Segundo o Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas (SINITOX), em 2014 foram registrados 4.758 casos de intoxicação por uso de agrotóxicos na agricultura e manejo doméstico, sendo a faixa etária mais acometida de um a quatro anos de idade, representando 20,45% do total. Logo após estão os indivíduos entre vinte a vinte e nove anos, equivalendo a 14,2%, sendo o maior registro de casos na zona rural²⁰⁻²¹.

O sucesso das plantações muitas vezes depende de ações de controle de plantas daninhas, como o uso de agrotóxicos. Desde 2008, o Brasil é líder mundial no consumo de defensivos agrícolas. Com isso o uso abusivo de agrotóxicos está

diretamente relacionado a inúmeros problemas de saúde e atinge trabalhadores da cadeia produtiva do agronegócio, moradores de áreas próximas aos centros de produção e consumidores que ingerem derivados de cultivos auxiliados por herbicidas²²⁻²³.

Os pesticidas empregados nas atividades agrícolas produzem efeitos diversos à saúde humana e ambiental. A contaminação resultante do uso de pesticidas para o homem e para os animais pode ser aguda ou crônica. No primeiro caso há uma exposição direta a uma única dose do produto, culminando com morte rápida ou lenta. No segundo caso, ocorre uma exposição constante a doses relativamente baixas, levando ao aparecimento de sinais ou sintomas relativos à intoxicação crônica²⁴.

Os pesticidas mais utilizados na agricultura são os compostos organofosforados (OFs), que derivam do ácido fosfórico e tiosfosfórico e geralmente são aplicados como inseticidas²⁵.

A exposição aos OFs geralmente ocorre em pessoas que estão em contato com tais produtos químicos em consequência de sua ocupação, no hábito de comer durante o trabalho, no preparo do produto, ou indivíduos que residem próximo aos locais de armazenamento desses produtos. Sabe-se que a população em geral se expõe através da propagação dos produtos químicos no ambiente pelo consumo de alimentos contaminados, além das intoxicações intencionais (homicídio e suicídios)²⁶.

Sabemos que a absorção dos OFs pelo organismo humano acontece por via dérmica, respiratória e digestiva. A via oral assume importância nas intoxicações digestivas, principalmente em crianças em casos acidentais, e em adultos através do consumo de alimentos contaminados^{12,27-29}.

As formulações comercializadas do malation podem conter até doze impurezas formadas durante a fabricação e armazenamento. A capacidade mutagênica e alto potencial carcinogênico estão sendo estudados e discutidos. Porém, ainda necessitamos de mais estudos sobre a associação de malation, câncer e efeitos respiratórios³⁰.

De acordo com os dados impactantes sobre o uso de agrotóxicos, principalmente os organofosforados na saúde, tanto como exposição direta ou indireta, faz-se necessário cada vez mais estudos que avaliem os efeitos destes nos sistemas do corpo humano. Como os inseticidas são utilizados na parte agrícola e no controle de doenças zoonóticas, que são considerados agravos da saúde pública, precisamos avaliar os sintomas de intoxicação e exposição, para que os profissionais de saúde estejam aptos a identificar os sintomas e instalar tratamento adequado.

Justifica-se que atualmente os agrotóxicos são considerados de extrema importância no modelo de desenvolvimento da agricultura no país. Sabe-se que o Brasil é o maior consumidor de produtos agrotóxicos no mundo e o uso estimulado desses compostos proporcionou elevados índices de intoxicações induzidas por essas substâncias no campo ou em áreas urbanas³¹.

Os trabalhadores agrícolas estão em grande parte do tempo expostos aos riscos de intoxicação, devido ao contato intenso com os inseticidas. Esses compostos são potencialmente tóxicos aos seres humanos, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, ter ação imunodepressora ou serem até cancerígenos, entre outros efeitos. Os organofosforados são uns dos pesticidas mais utilizados e causadores de intoxicações ocupacionais, pertencentes à classe dos inibidores das enzimas colinesterases³²⁻³³.

Os carbamatos e os organofosforados são absorvidos por via oral, respiratória e cutânea, aumentando as taxas de intoxicação em todo o mundo³⁴.

Com o aumento populacional e os avanços tecnológicos o uso de inseticidas organofosforados tem sido cada vez mais utilizado para agricultura e também para o controle de doenças causadas por vetores. Dessa forma, é necessário analisar os possíveis danos ao sistema respiratório, através de análise histopatológica de pulmões de ratos expostos ao Malation. A fim de promover aumento do conhecimento sobre os sinais de intoxicação e alterações permanentes no epitélio pulmonar.

O presente estudo tem como objetivo analisar as alterações do epitélio pulmonar em ratos submetidos ao inseticida organofosforado, Malation.

MÉTODOS

Aspectos de natureza ética

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética para uso dos Animais da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) e foi realizado de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório do Instituto Nacional de Saúde (USA). Protocolo CEUA- 7109.

Este projeto utilizou os pulmões provenientes dos ratos utilizados no estudo intitulado “Avaliação dos efeitos do malation sobre o desenvolvimento do sistema genital feminino de ratos desde o período juvenil até a puberdade”, aprovado em 17 de Novembro de 2021.

Delineamento experimental

Foram utilizados 30 ratos fêmeas da linhagem Wistar, com idade inicial de 21 dias, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina - UEL. Os animais foram distribuídos casualmente em três grupos experimentais (n = 10). Dois grupos de animais serão tratados com Malation nas doses de 10 mg/kg ou 50 mg/kg de peso corpóreo via gavagem. Essas doses correspondem a 0,5% e 2,5%, respectivamente da DL50 oral para ratos (DL50 oral = 2000 mg/kg) (U S EPA, 200). O outro grupo (grupo controle) recebeu apenas o veículo (óleo de soja) em igual volume.

Coleta dos materiais

No biotério de Londrina, as fêmeas foram anestesiadas com associação de xilazina e quetamina e submetidos à eutanásia por punção cardíaca, em fase de estro, para a coleta dos pulmões, os quais foram destinados ao processamento histológico. Os pulmões foram fixados na solução fixadora de Alfac (85% de álcool 80%, 10% de formol e 5% de ácido acético glacial). No laboratório da UNOESTE foi realizado o processamento dos pulmões em parafina e realizado cortes histológicos de 5 µm de espessura (três cortes não seriados por animal) corados com hematoxilina e eosina.

Análise dos dados

A avaliação do epitélio pulmonar, após a confecção das lâminas, foi realizado a captura de imagens em microscópio com câmera acoplada (Leica ICC50 HD).

Foi realizada análise histopatológica e morfométrica do tecido pulmonar, com aumento microscópio de 400X e 1000x (Figura 2), foram analisadas 42 lâminas com 3 imagens de cada uma, totalizando 126 imagens.

Após captura das imagens foi utilizado o software image-Pro Plus® (versão 7.0, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA), para quantificação das células caliciformes, área do bronquíolo e área da luz do tecido pulmonar dos ratos.

Feito análise cegada para evitar falsos resultados.

RESULTADOS

O presente estudo analisou o epitélio pulmonar de 30 ratas fêmeas da raça Wistar, através da administração por gavagem de Malation na dose de 10 mg/kg, 50 mg/kg e um grupo controle que recebeu óleo de soja. Os resultados foram obtidos através das seguintes análises; células caliciformes; área do bronquíolo, área da luz, espessura da camada muscular e score de inflamação. Não houve morte de nenhum animal durante o período experimental.

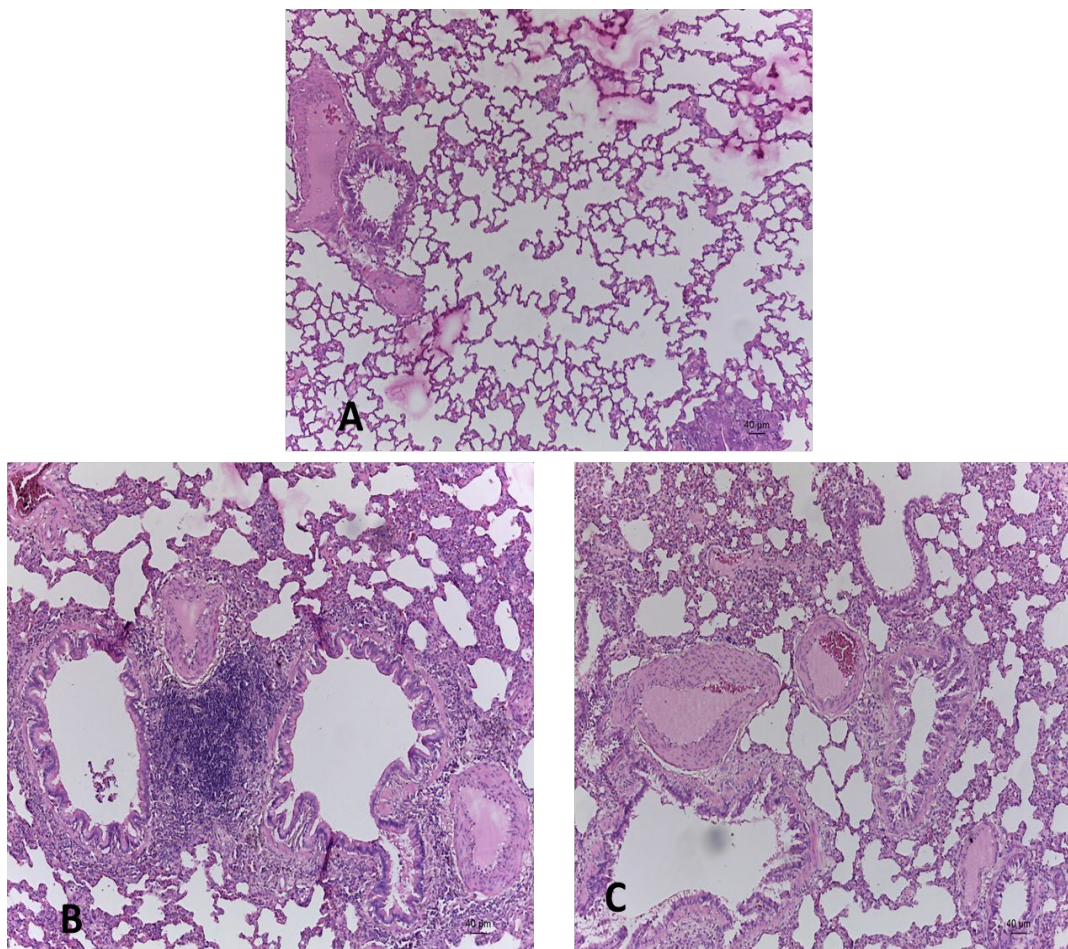
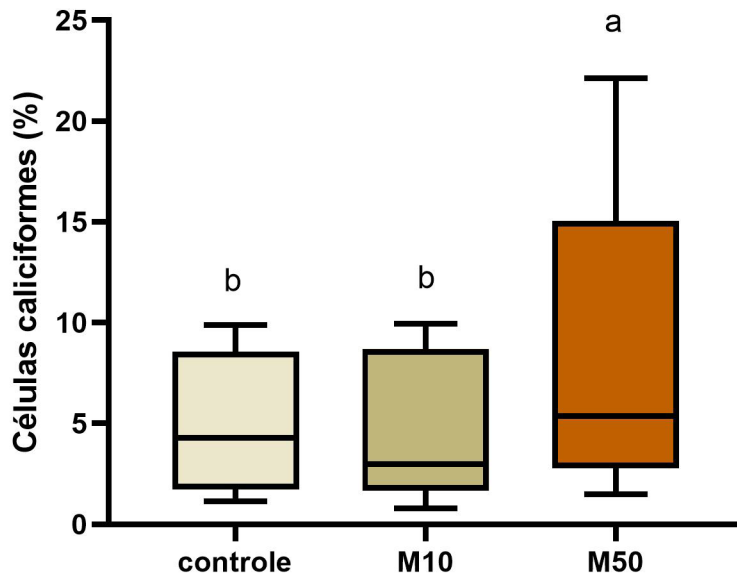


Figura 2: A) Identificação do grupo controle; bronquíolo e rede alveolar; B) Grupo M10 (dosagem 10mg/kg): visualização dos bronquíolos e rede alveolar; C)

Grupo M50 (dosagem 50mg/kg); visualização do bronquíolo e rede alveolar. Lâminas coradas com hematoxilina e eosina com aumento de 1000X.

Na figura 3 são comparadas as relações entre o grupo controle e os que receberam malation nas diferentes dosagens com a porcentagem das células calciformes. Constatamos aumento das células calciformes no grupo que recebeu maior dosagem de malation (M50).

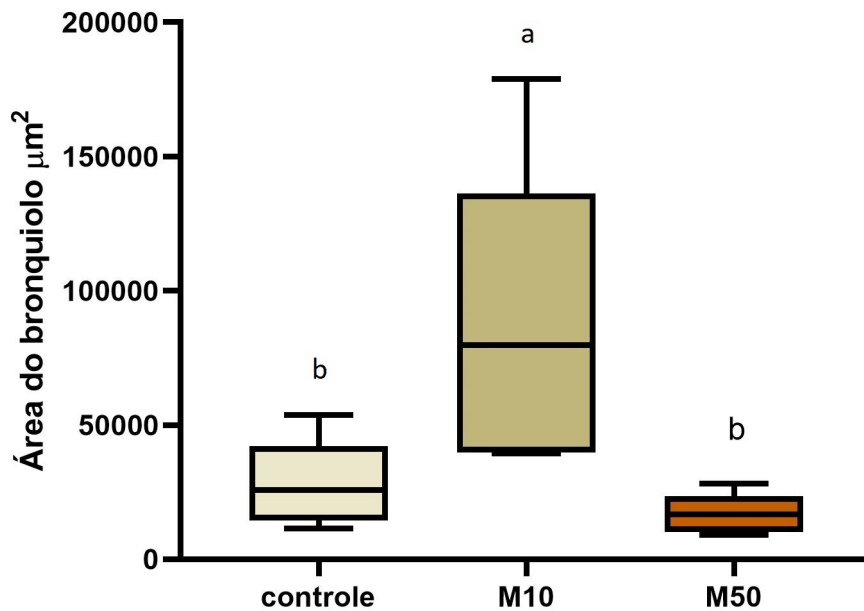


Legenda: letras minúsculas diferentes representam a diferença estatística na comparação entre os grupos de acordo com as dosagens de malation. As letras minúsculas iguais não tiveram valores significativos de acordo com nossa análise.

Figura 3: Comparação entre as médias dos animais que receberam malation e o aumento das células calciformes.

Resultados apresentados em média (Desvio Padrão), valor obtido pelo Teste de ANOVA de dois fatores, com nível de significância de $p < 0,05$.

Na Figura 4, podemos observar a comparação entre o grupo controle e as diferentes dosagens de malation com a área do bronquíolo. Observamos um grande aumento da área do bronquíolo no grupo M10, tanto em comparação com o controle quanto ao grupo M50. Comparando o grupo controle com o M10 tivemos aumento da área do bronquíolo com valor significativo, porém em comparação do grupo controle com o M50, não obtivemos valores com significância estatística.

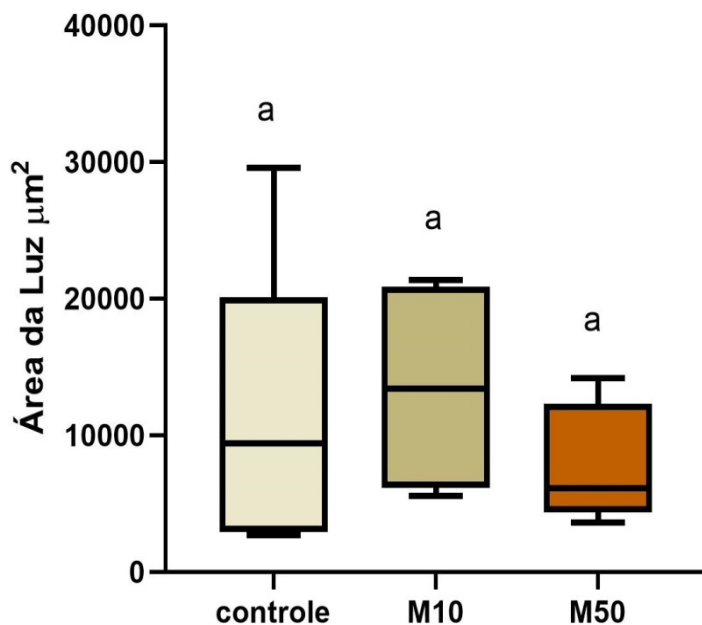


Legenda: Letras minúsculas diferentes representam os valores obtidos com significância estatística. As letras minúsculas iguais apresentam pouco valor estatístico em relação às médias de alteração.

Figura 4: Comparação entre o grupo controle com as diferentes dosagens de malation em relação à área do bronquíolo.

Resultados apresentados em média (Desvio Padrão), valor obtido pelo Teste de ANOVA de dois fatores, com nível de significância de $p < 0,05$.

Na Figura 5, analisamos as alterações do tamanho da área da luz do bronquíolo em relação às dosagens de malation. Observamos redução na área da luz dos bronquíolos no grupo que recebeu maior dosagem (M50) de malation.

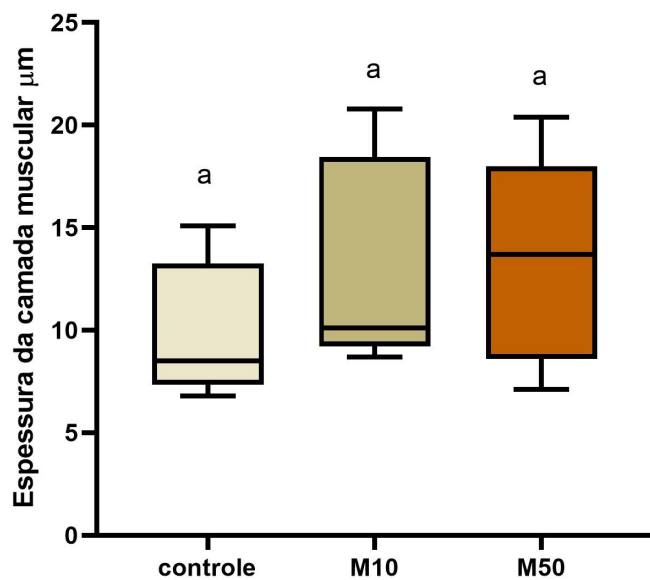


Legenda: letras minúsculas iguais denotam médias muito próximas, sem valor estatístico.

Figura 5: Comparação entre as diferentes dosagens de malation em relação a área da luz do bronquíolo.

Resultados apresentados em média (Desvio Padrão), valor obtido pelo Teste de ANOVA de dois fatores, com nível de significância de $p < 0,05$.

A figura 6 demonstra a comparação entre as dosagens de malation e as alterações na espessura da camada muscular. Constatamos que existe aumento da espessura da camada muscular nos dois grupos que receberam o malation (M10 e M50), pode-se ainda observar que a média do grupo M50 obteve maior aumento da espessura da camada muscular em relação aos outros grupos, porém não significativo.

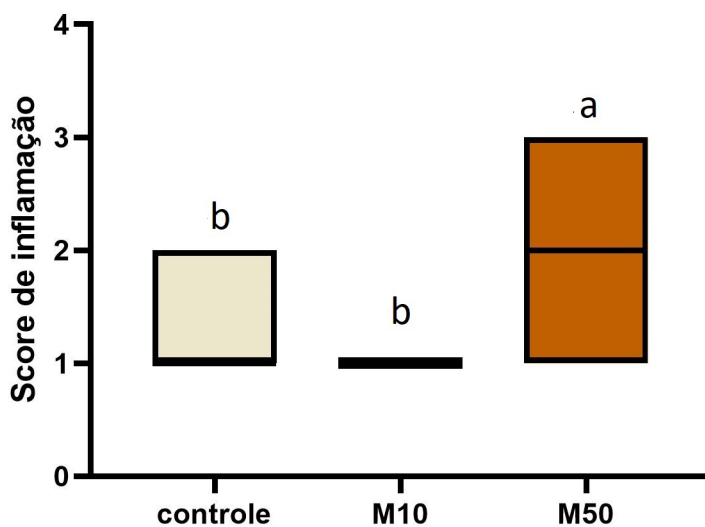


Legenda: letras minúsculas iguais, sem valor significativo.

Figura 6: Comparação do aumento da espessura da camada muscular com as dosagens de malation.

Resultados apresentados em média (Desvio Padrão), valor obtido pelo Teste de ANOVA de dois fatores, com nível de significância de $p < 0,05$.

A figura 7 mostra o score de inflamação em relação ao grupo controle com os grupos que receberam malation. Observamos aumento no score de inflamação no grupo M50, o qual recebeu maior dosagem de malation, com valores de relevância estatística.



Legenda: letras minúsculas iguais representam pouco valor estatístico e letras minúsculas diferentes demonstram valores com significância estatística.

Figura 7: Comparação dos grupos em relação ao score de inflamação.

Resultados apresentados em média (Desvio Padrão), valor obtido pelo Teste de ANOVA de dois fatores, com nível de significância de $p < 0,05$.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho demonstraram, que as concentrações utilizadas causaram alterações na histologia pulmonar dos ratos submetidos ao malation em diferentes dosagens. O que também foi verificado em 2014, por Inouye et al.³⁵, mostrando aumento de infiltrado inflamatório, espessamento alveolar e bronquiolar com congestão pulmonar.

O uso de pesticidas químicos em países em desenvolvimento como Brasil e seus impactos na saúde humana e na segurança alimentar é uma preocupação global, devido a este fato nosso trabalho realizou análise sobre os efeitos que o inseticida Malation, pode provocar no epitélio pulmonar.

Em 1983, Imamura et al.³⁶ fizeram um estudo sobre a administração oral de uma das impurezas do Malation (O, O, S-trimetilfosforotioato-OOS), onde constataram alterações morfológicas no epitélio bronquiolar dos pulmões dos ratos. Os pulmões de ratos tratados com OOS tinham menos células Clara (não ciliadas), porém, maiores do que os pulmões de ratos de controle que receberam óleo de milho ou malation purificado. Além disso, a atividade da lactato desidrogenase (LDH) no líquido de lavagem broncopulmonar foi significativamente maior em OOS do que em ratos controle. Esses dados demonstram que OOS e/ou seus metabólitos causam lesão pulmonar, provavelmente devido fatores inflamatórios. De acordo com esse estudo o aumento dos níveis de LDH no líquido de lavagem broncopulmonar foi demonstrado ser um marcador útil para detectar lesão pulmonar resultante de pneumotóxicos.

O presente estudo analisou o pulmão de 30 ratos fêmeas da linhagem Wistar, submetidas ao malation. Os animais foram divididos casualmente em três grupos experimentais. Dois grupos de animais foram tratados com Malation nas doses de 10 mg/kg (M10) ou 50 mg/kg (M50) de peso corpóreo via gavagem. O outro grupo (grupo controle) recebeu apenas o veículo (óleo de soja) em igual volume.

Foi realizada análise histopatológica do tecido pulmonar, coradas com Hematoxilina e Eosina, com aumento microscópio de 400X e 1000X. Para avaliar a organização do epitélio pulmonar após o uso de malation, realizamos análises a respeito das células caliciformes, a área dos bronquíolos, espessura da camada muscular, área de luz dos bronquíolos e do score de inflamação.

A maior parte do epitélio respiratório é denominado pseudoestratificado colunar ciliado e composto pelas células caliciformes, que são responsáveis pela produção e excreção de muco³⁷.

Observamos aumento da porcentagem de células caliciformes no grupo que recebeu maior dosagem de Malation em relação ao grupo controle e o grupo M10. De acordo com o teste estatístico, em relação ao valor de $p < 0,05$ não constatamos alteração com significância estatística (Figura 3). Em relação à área do bronquíolo observamos aumento significativo do grupo que recebeu menor quantidade de malation (M10), mesmo se compararmos com o grupo controle e o grupo que recebeu maior dosagem. O que nos chama a atenção também é a redução da área do bronquíolo no grupo M50, o que pode indicar remodelamento bronquiolar (Figura 4).

Os OFs atuam inibindo a função de dois tipos de proteínas (enzimas da classe das acetilcolinesterase - AChEs): a) acetilcolinesterase específica, verdadeira ou acetilcolinesterase, (AChE) encontrada principalmente nas sinapses do SNC, periférico parassimpático e junção neuromuscular; b) butirilcolinesterase, pseudocolinesterase ou acetilcolinesterase inespecífica (BChE), encontrada no

plasma, no intestino e, em menor concentração, em outros tecidos, está também presente nos eritrócitos^{29,38-39}.

Através do metabolismo hepático os OFs sofrem metabolização, produzindo os inibidores das enzimas colinesterases. Alterações bioquímicas e fisiológicas nos eritrócitos e linfócitos podem ser causadas pelo Malation, além de induzir uma série de aberrações cromossômicas em animais⁴⁰⁻⁴².

Póvoa et al.⁴³ expressam que estudos demonstram inclusive, a capacidade do Malation em alterar o ciclo celular e produzir distorções em nível de replicação do DNA celular, aberrações cromossômicas e associam sua ação a diversas patologias como o câncer, arteriosclerose, Parkinson, Alzheimer, malformações congênitas, infertilidade e esterilidade.

Em 2014, Inoyue et al.³⁵, realizaram um estudo experimental, com o objetivo de analisar as alterações morfológicas ocorridas no fígado e no pulmão de ratos Wistar adultos, submetidos a doses do inseticida Malation, por 7, 14 e 21 dias. Os animais foram divididos em quatro grupos, dos quais três foram tratados com Malation e um grupo controle recebeu soro fisiológico. Na investigação, foram utilizados 39 ratos albinos, adultos, machos e fêmeas da linhagem Wistar, com peso entre 240 g a 500 g. Estes foram divididos em quatro grupos denominados: 1, 2 e 3, compostos por oito animais cada um, tratados com Malation (volume de 10 mL e concentração de 250 mg/kg do peso corporal) e grupo controle, formado por 15 animais, administrado com soro fisiológico 0,9% e volume variável conforme o peso. Na histopatologia do pulmão dos mesmos ratos controle, encontraram-se aspectos normais nas áreas da região alveolar e bronquiolar. O que também observamos no nosso trabalho. Já os grupos tratados com a droga em diferentes tempos, apresentaram consideráveis alterações. No grupo 1 (receberam malation por 7 dias), visualizaram áreas fibrosadas, infiltrado inflamatório acentuado e um espessamento alveolar, mas com preservação da luz alveolar. De acordo com nosso estudo observamos que as doses de malation de 10 mg/kg e 50 mg/kg, apresentaram pouca alteração da área da luz, apesar da amostra que recebeu maior dosagem houve redução da área da luz (Figura 5). No grupo 2, constatou-se uma evidente congestão pulmonar, seguida de um espessamento de septos alveolares com a presença de capilares nestes septos. No grupo 3, foi também verificado um infiltrado inflamatório mononuclear constituído de macrófagos e linfócitos, uma descamação epitelial nos bronquíolos com presença de hemácias na luz e espessamento de tecido conjuntivo (submucosa) bronquiolar.

Em relação à espessura da camada muscular do bronquíolo, não constatamos alteração com significância estatística (Figura 6). De acordo, com o estudo de Inoyue et al.³⁵, com o maior tempo de exposição (21 dias) e uma dosagem maior do que utilizamos no nosso trabalho, verificaram aumento da camada muscular do bronquíolo.

De acordo com a avaliação do score de inflamação, notamos aumento importante no grupo M50, comparado com o controle e o grupo M10. Os dados estatísticos possuem maior relevância, pois a média do grupo que recebeu maior dosagem (m50), conseqüentemente apresentou maior score de inflamação (Figura 7).

No mesmo estudo de Inoyue et al.³⁵, além de analisaram a histopatologia pulmonar de ratos expostos ao malation, analisaram também a presença de alterações hepáticas. Foi observado a presença de núcleos picnóticos, congestão vascular, vacuolização citoplasmática e infiltrado inflamatório. Dessa forma, podemos constatar que a exposição ao malation apresenta alterações sistêmicas.

Rezg et al.⁴⁴ ao analisarem os efeitos do Malation, calcularam o valor do hematócrito, o teor de hemoglobina e a concentração de glicose no sangue de animais submetidos à exposição subcrônica do produto via intragástrica diariamente, durante 32 dias. De fato, a única modificação notada foi na quantidade de hemoglobina, que aumentou significativamente, cujo resultado é justificado como uma adaptação para melhor oxigenação, já que o Malation provoca dano pulmonar. Dado esse que revigora a nossa constatação sobre as alterações pulmonares.

Em 1981, Wyatt et al.⁴⁵, publicou um trabalho sobre a instilação intrabronquial de paraquat em ratos e realizou estudo da morfologia e retenção do inseticida. Várias quantidades de paraquat (10(-5) a 10(-12) g) em 0,1 ml de solução salina foram instiladas diretamente no brônquio esquerdo de ratos machos adultos. Estudos gravimétricos, macroscópicos e microscópicos no lobo esquerdo do pulmão mostraram que 10(-5) g de paraquat levaram a edema pulmonar e lesões macroscópicas dois e 14 dias após a aplicação. A patologia do pulmão foi semelhante à observada após envenenamento sistêmico. Quando 10(-6) g de paraquat foram instilados, alguns animais desenvolveram edema pulmonar e lesões macroscópicas. Porém, no exame microscópico mostrou alterações sutis no parênquima pulmonar.

Um recente estudo, publicado em 2022, por Shaikat et al.⁴⁶, avaliou o perigo para a saúde originado por produtos químicos, como o malation e o nitrobenzeno em humanos, através do modelo de coelho. Entre os pesticidas, os organofosforados estão relacionados ao crescimento e anormalidades reprodutivas em animais. O malation é um pesticida organofosforado que atribui seu efeito tóxico à inibição da acetilcolinesterase. Contudo, este pesticida agora está sendo considerado um provável carcinógeno da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), que tem efeitos deletérios relatados em humanos e animais ⁴⁷⁻⁴⁸.

O malation é muito usado atualmente, pois é considerado de baixa toxicidade em comparação com outros organofosforados. No entanto, o uso generalizado pode levar à exposição excessiva de múltiplas fontes. Os mecanismos de toxicidade do malation incluem a inibição da enzima acetilcolinesterase, alteração do equilíbrio oxidantes/antioxidantes, dano ao DNA e facilitação do dano celular apoptótico. A exposição ao malation tem sido relacionada a diferentes toxicidades que afetam quase todos os órgãos de nossos corpos, sendo a toxicidade do SNC a mais bem documentada. Os efeitos tóxicos do malation no fígado, rins, testículos, ovários, pulmões, pâncreas e sangue também foram relatados. Além disso, também foi considerado um composto químico genotóxico e carcinogênico. Existem evidências de efeitos adversos associados à exposição pré-natal e pós-natal em animais e humanos.

Em nossa pesquisa bibliográfica encontramos poucos estudos recentes sobre as alterações que o malation pode provocar no pulmões, o que dificultou o confronto dos resultados. Portanto faz-se necessários mais estudos sobre o assunto.

Um fator que também chama a atenção está relacionado ao impacto residual dos pesticidas, pois as pessoas são expostas a pesticidas químicos através do contato com a pele, ingestão ou inalação. O tipo de pesticida, a duração e a via de exposição e o estado de saúde individual são fatores de risco que influenciam na saúde em uma determinada comunidade ⁴⁹⁻⁵⁰.

A exposição a pesticidas organofosforados pode ser um fator de risco para anomalias congênitas e outros resultados adversos do nascimento. No contexto dos níveis de segurança, as concentrações podem não exceder os níveis seguros

determinados pela legislação. Porém, esses "limites seguros" podem subestimar o aspecto prático do impacto residual dos pesticidas na saúde humana ⁵¹⁻⁵².

Além disso, a identificação de pesticidas no leite materno realça a importância das preocupações de saúde pública decorrentes de pesticidas residuais ⁵³.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo demonstraram que a exposição ao malation provoca alterações na histologia pulmonar, como por exemplo a presença de inflamação dos bronquíolos. Observamos que os ratos que receberam a maior dosagem de malation (M50); apresentaram aumento de células calciformes, redução da área do bronquíolo, redução da área da luz, com preservação da espessura da camada muscular e aumento do score de inflamação, em comparação com o grupo controle e com o grupo que recebeu menor dosagem de malation (M10). Isso nos mostra a presença de alteração na histopatologia pulmonar, embora em alguns aspectos avaliados não obtivemos valores estatisticamente significativos.

Desse modo, nota-se a importância em realizar novas pesquisas em relação ao tema abordado, para que consigamos maiores dados para implementação de alternativas que evidentemente são mais seguras, tanto para o meio ambiente e para a população.

As políticas públicas de saúde e práticas agrícolas atuais devem implementar protocolos ambientalmente amigáveis que representem menos riscos à saúde.

REFERÊNCIAS

1. Bowles RG, Webster JPG. Some problems associated with the analysis of the costs and benefits of pesticides. *Crop Protection*. 1995;14:593-600.
2. Antle JM, Pingali PL. Pesticides, productivity, and farmer health: a philippine case study. *Am J Agric Econ*. 1994;76:418-30.
3. Ribeiro ACC, Mella EAC. Intoxicação ocupacional por organofosforados – a importância da dosagem de colinesterase. *Iniciac Cient CESUMAR*. 2007 Jul-Dez;9(2):125-34.
4. Peres F, Rozemberg B, Alves SR, Moreira JC, Oliveira-Silva JJ. Comunicação relacionada ao uso de agrotóxicos em região agrícola do Estão do Rio de Janeiro. *Rev. Saúde Pública*. 2001;35(6):564-70.
5. Pires DX, Caldas ED, Recena MCP. Uso de agrotóxicos e suicídios no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2005 Mar-Abr;21(2):598-605.
6. Canturitti TFP. Risco tóxico de resíduos de pesticidas em alimentos e toxicidade reprodutiva em ratos wistar [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2005. 73 f.
7. Faria NMX, Fassa AG, Facchini LA. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. *Ciênc Saúde Colet*. 2007;12(1):25-38.
8. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Agrotóxicos e toxicologia: programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos: relatório anual. Citação e referências a documentos eletrônicos [Internet]. [citado em 2021 Maio 20]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>
9. Vinhal DC, Soares VHC. Intoxicação por organofosforados: uma revisão da literatura. *Rev Científica FacMais*. 2018 Out;14(3):61-75.
10. Oga S. Fundamentos de toxicologia. 2a. ed. São Paulo: Atheneu; 2003. 474 p.
11. Fenik J, Tankiewicz M, Biziuk M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trend Anal Chem*. 2011;30(6):815-26. doi: [10.1016/j.ttrac.2011.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ttrac.2011.02.008)
12. Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A. Biological monitoring of pesticide exposure: a review. *Toxicology*. 2000;143:1-118.
13. Guevara JL, Pueyo VM. Toxicología médica: clínica y laboral. Madrid: Interamericana, McGraw-Hill; 1995.
14. Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS. Organização Mundial da Saúde - OMS. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Brasília: [s. n.]; 1996.

15. Soares W, Almeida RMVR, Moro S. Trabalho rural e fatores de risco associados ao regime de uso de agrotóxicos em Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2003 Jul-Ago;19(4):1117-27.
16. Chanda SM, Pope CN. Neurochemical and neurobehavioral effects of repeated gestational exposure to chlorpyrifos in maternal and developing rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1995;53(4):771-6.
17. Abou-Donia, MB. Organophosphorus ester-induced chronic neurotoxicity. *Arch Environ Health*. 2003;58:484-97.
18. Ankarberg E, Fredriksson A, Eriksson P. Increased susceptibility to adult paraoxon exposure in mice neonatally exposed to nicotine. *Toxicol Sci*. 2004 Dec;82(2):555-61. doi: [10.1093/toxsci/kfh274](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh274).
19. Domingues MR, Bernardi MR, Ono EYS, Ono MA. Agrotóxicos: risco à saúde do trabalhador rural. *Semina ciênc biol saúde*. 2004;25:45-54.
20. Moreira JC, Jacob SC, Peres F, Lima JS, Meyer A, Oliveira-Silva JJ et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. *Ciênc Saúde Colet*. 2002; 7(2):299-311.
21. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas - SINITOX. Casos registrados de intoxicação humana por agente tóxico e faixa etária [Internet]. [citado em 2021 Maio 15]. Disponível em: https://sinitox.iciet.fiocruz.br/sites/sinitox.iciet.fiocruz.br/files//Brasil7_2.pdf.
22. Abrasco. Brazilian Association of Public Health. Note against aerial spraying of insecticides for vector control; 2016.
23. Gomes MJM. Ambiente e pulmão. *J Pneumol*. 2002;28(5):261-69. doi: [10.1590/S0102-35862002000500004](https://doi.org/10.1590/S0102-35862002000500004).
24. World Health Organization - WHO. Public health impact of pesticides used in agriculture. Geneva: Unep; 1990.
25. Costa LG. Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta*. 2006;366(1-2):1-13.
26. Silva AP, Meotti FC, Santos AR, Farina M. Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice. *NeuroToxicology*. 2006;27:1101-5.
27. Cavaliere MJ, Calore EE, Perez NM, Puga FR. Miotoxicidade por organofosforados [Organophosphate-induced myotoxicity]. *Rev Saude Publica*. 1996 Jun;30(3):267-72. Portuguese. doi: [10.1590/s0034-89101996000300010](https://doi.org/10.1590/s0034-89101996000300010).
28. Larini L. Praguicidas. In: Oga S. Fundamentos da Toxicologia. São Paulo: Atheneu; 1996. p. 515.

29. Kushik J, Chandrabhan D. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides. *Rev Panam Salud Publica*. 2003;14(3):171-85.
30. Bastos PL, Bastos AFTL, Gurgel AM, Gurgel IGD. Carcinogenicidade e mutagenicidade do malathion e seus dois análogos: uma revisão sistemática. *Ciênc Saúde Colet*. 2020;25(8):3273-97. doi: [10.1590/1413-81232020258.10672018](https://doi.org/10.1590/1413-81232020258.10672018)
31. Santos AA. Avaliação dos efeitos tóxicos induzidos por malation e malatoxon e a possível proteção por oximas [tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2013. 120 f.
32. Linhares AG. Efeito de pesticidas organofosforados e carbamatos sobre a acetilcolinesterase eritrocitária humana e seu potencial uso como biomarcador da exposição ocupacional [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2014. 81 f.
33. Fukuto TR. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ Health Perspect*. 1990 Jul; 87:245–54.
34. Matos LE, Loria DJ, Albiano N, Sobel N, Bujan EC. Efectos de los plaguicidas em trabajadores de cultivos intensivos. *Bolo f Sanit Panam*. 1988; 104(2).
35. Inouye LA, Fernandez LM, Carneiro LFS, Germano JJ, Criscib AR. Avaliação Morfológica do Fígado e do Pulmão Pós Intoxicação por Organofosforado, em Ratos Wistar. *Uniciências*. 2014 Dez;18(2):103-9.
36. Imamura T, Gandy J, Fukuto TR, Talbot P. An impurity of malathion alters the morphology of rat lung bronchiolar epithelium. *Toxicology*. 1983 Jan;26(1):73-9. doi: [10.1016/0300-483x\(83\)90058-6](https://doi.org/10.1016/0300-483x(83)90058-6).
37. Luís AS. Células do epitélio respiratório (vias aéreas de condução). *Rev Port Pneumol*. 1997 jul-aug;4(3):433-9. doi: [10.1016/S0873-2159\(15\)31122-3](https://doi.org/10.1016/S0873-2159(15)31122-3).
38. Carvalho G, Ribeiro SL. Intoxicações por agrotóxicos em trabalhadores dos pomares de maçãs [especialização]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2001. p. 11-17.
39. Costa LG, Aschner M, Vitalone A, Syversen T, Soldin OP. Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004;44:87-110. doi: [10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121424](https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121424).
40. Santos AA. Efeito reativador de oximas frente à inibição da enzima acetilcolinesterase cerebral induzida por malation e malaoxon [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2009. 87 f.
41. Banerjee BD, Seth V, Bhattacharya A, Pasha ST, Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett*. 1999 Jun 30;107(1-3):33-47. doi: [10.1016/s0378-4274\(99\)00029-6](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00029-6).

42. Amer SM, Fahmy MA, Aly FA, Farghaly AA. Cytogenetic studies on the effect of feeding mice with stored wheat grains treated with malathion. *Mutat Res.* 2002 Jan 15;513(1-2):1-10. doi: [10.1016/s1383-5718\(01\)00261-3](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00261-3).
43. Póvoa R, Luna Filho B, Ferreira Filho C, Ferreira M, Ferreira C. Intoxicação por organo-fosforado e necrose miocárdica. *Arq. Bras. Cardiol.* 1997;68:377-80.
44. Rezg R, Mornagui B, Kamoun A, El-Fazaa S, Gharbi N. Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. *C R Biol.* 2007 Feb;330(2):143-7. doi: [10.1016/j.crvi.2006.11.002](https://doi.org/10.1016/j.crvi.2006.11.002).
45. Wyatt I, Doss AW, Zavala DC, Smith LL. Intrabronchial instillation of paraquat in rats: lung morphology and retention study. *Br J Ind Med.* 1981 Feb;38(1):42-8. doi: [10.1136/oem.38.1.42](https://doi.org/10.1136/oem.38.1.42).
46. Shaikat AH, Khan SA, Imtiaz MA, Pasha R, Sultana J, Saif A, et al. Assessing the health hazard originated via pesticide chemicals in human through rabbit model in agricultural production system in Bangladesh. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2022;23:28. doi: <https://doi.org/10.1186/s40360-022-00567-5>
47. Getenga ZM, Jondiko JIO, Wandiga SO, Beck E. Dissipation behavior of malathion and dimethoate residues from the soil and their uptake by garden pea (*Pisum sativum*). *Bull Environ Contam and Toxicol.* 2002;64:359–67. doi: <https://doi.org/10.1007/s001280000008>.
48. Badr AM. Organophosphate toxicity: updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. *Environ Sci Pollut Res.* 2020;27:26036-57. doi: [10.1007/s11356-020-08937-4](https://doi.org/10.1007/s11356-020-08937-4).
49. Damalas CA, Koutroubas SD. Farmers' Exposure to pesticides: toxicity types and ways of prevention. *Toxics.* 2016 Jan 8;4(1):1. doi: [10.3390/toxics4010001](https://doi.org/10.3390/toxics4010001).
50. Shafy HIA, Mansour SM. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt J Pet.* 2016;25(1):107-23.
51. Recio R, Robbins WA, Aburto VB, Martinez JM, Froines JR. Organophosphorous pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Environ Health Perspectives.* 2001;109(12):1237-40.
52. Emery BR, Carrell DT. The effect of epigenetic sperm abnormalities on early embryogenesis. *Asian J Andrology.* 2006;8(2):131-42.
53. Brody JG, Rudel RA. Environmental pollutants and breast cancer. *Environ Health Perspect.* 2003;111:1007–19. <https://doi.org/10.1289/ehp.6310>.

ANEXOS

ANEXO A - APROVAÇÃO DO TRABALHO PELO COMITÊ ÉTICA

11/04/2023, 09:12

Certificado

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "EXPOSIÇÃO ORAL AO MALATHION: EFEITOS NA MORFOLOGIA PULMONAR DE RATOS.", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 7109 e tendo como participante(s) GABRIELA VIDOTTO CAVALLIERI (discente), GABRIELA REIGOTA BLANCO (discente), FRANCIS LOPES PACAGNELLI (docente), RENATA CALCIOLARI ROSSI (orientador responsável), foi avaliado e APR. COM RECOMENDAÇÃO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APR. COM RECOMENDAÇÃO em reunião realizada em 13/10/2021.

MATERIAL ARMAZENADO/DOADO

Protocolo(s)	Data Aprovação	Armazenado (local)	É doação	Detalhes armazenamento
21053.2019.71	10/03/2020	UNOESTE	SIM	Sala dos professores da Patologia

Presidente Prudente, 14 de Fevereiro de 2022.

Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Docente Responsável pela CPDI

Prof. Dr. Felipe Rydygier de Ruediger
Coordenador da CEUA - UNOESTE

Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação – CPDI – 18 3229-2079 – cpdi@unoeste.br
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP – 18 3229-2079 – cep@unoeste.br
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – 18 3229-2079 – ceua@unoeste.br

valide este documento em www.unoeste.br/spp informando o código de segurança e0b3f8095ea3874a6c3e2b9c42a65b8b

<https://www.unoeste.br/SGP/certificados/ver.asp?h=e0b3f8d95ea3874a6c3e2b9c42a65b8b>

1/1

ANEXO B – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CIENTÍFICA A QUAL O ARTIGO SERÁ SUBMETIDO

REVISTA MEDICINA (RIBEIRÃO PRETO)

Instruções aos autores

1. POLÍTICAS EDITORIAIS

A revista Medicina (Ribeirão Preto) editada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo em parceria com o Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto objetiva propiciar o avanço e aprimoramento da prática da medicina multidisciplinar.

A revista publica artigos de pesquisas originais, relatos científicos (artigos de revisão e relatos de caso), ensaios, temas de ensino em saúde e gestão em organizações de saúde, além textos científicos divulgados em repositórios Preprints. A informação de que o texto é um Preprint deve constar em uma Carta de Apresentação ao editor, acompanhado do DOI e do nome do servidor em que se encontra depositado.

Está destinada primordialmente aos estudantes de graduação e pósgraduação, médicos residentes, assistentes e docentes do sistema medicouniversitário, assim como profissionais das áreas afins à saúde como enfermagem, fisioterapia, fonoaudiologia, nutrição, educação física, entre outros.

As submissões são abertas e são aceitos manuscritos em português, inglês ou espanhol. O manuscrito na íntegra e os demais arquivos deverão ser enviados através da plataforma Open Journal Systems (OJS). Sugerimos que os autores verifiquem as recomendações de boas práticas do Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos (ICMJE) antes de iniciar a submissão do material à revista.

Deverão ser seguidas as orientações da rede internacional The Equator Network para estruturar os diferentes tipos de relatos científicos. Tais diretrizes ajudam os autores a descreverem o estudo de forma mais completa a fim de serem avaliados pelos editores, revisores e leitores.

2. INSTRUÇÕES GERAIS

2.1 REQUISITOS DE AUTORIA

Recomendamos que os autores atendam os critérios de autoria estabelecidos pelo ICMJE:

- 1- Contribuição substancial no esboço do estudo ou na interpretação dos dados;
- 2- Participação na redação da versão preliminar;
- 3- Participação na revisão e aprovação da versão final;
- 4- Conformidade em ser responsável pela exatidão ou integridade de qualquer parte do estudo.

Os Editores da revista Medicina (Ribeirão Preto) não se responsabilizarão em determinar quem se qualifica ou não para ser autor e também não realizarão arbitragem de conflitos de autoria.

O autor correspondente assumirá a responsabilidade principal de comunicação com a revista, sendo importante que o mesmo esteja disponível durante a revisão por pares, edição e publicação para responder aos questionamentos editoriais em tempo hábil. Recomenda-se que o último autor seja o coordenador do estudo e/ou líder do grupo de pesquisa.

A seção de agradecimentos, descrita na folha de rosto, poderá ser utilizada para prestigiar indivíduos que não atendam aos critérios de autoria acima, mas que tenham contribuído com o estudo. (Vide QUADRO RESUMO pg.14)

2.2 IDENTIFICAÇÃO DO AUTOR (ORCID ID)

Incentivamos todos os autores a se registrarem e utilizarem o ORCID ID (identificador digital persistente para o autor) que distingue um autor de qualquer outro, ainda que tenha homônimo ou que tenha sido citado e/ou indexado de variadas formas.

2.3 DIREITOS AUTORAIS

Ao assinarem a declaração de responsabilidade e direitos autorais os autores afirmam a participação suficiente de todos na realização do trabalho e assumem, publicamente, que são responsáveis por seu conteúdo.

A revista Medicina (Ribeirão Preto) adota política de acesso aberto e a licença Creative Commons CC-BY, portanto os textos estão disponíveis para cópia e redistribuição em qualquer meio ou formato com a devida citação da fonte e autoria. Assim, não é necessária permissão por parte dos autores ou editores.

2.4 PROCESSO DE AVALIAÇÃO

Todos os processos de revisão da Revista Medicina (Ribeirão Preto) são duplo-cegos e revisados por pares. A seleção dos trabalhos para publicação é composta por duas fases: na primeira, a Comissão de Publicação analisa o interesse do tema para o público-alvo da revista e se o manuscrito está de acordo com as normas de publicação.

Na segunda, a qualidade do artigo é avaliada por dois ou mais revisores, mantendo-se sigilo sobre os autores do trabalho. Com base no parecer dos revisores o editor-chefe decidirá pela aprovação, reformulação ou recusa dos textos. Sempre que possível, os trabalhos serão publicados na ordem 5 cronológica do recebimento da versão final (data de aceitação), mas, a critério da Comissão de Publicação, poderá haver antecipações. Estima-se que o tempo médio entre a submissão e a publicação seja em torno de 3 a 6 meses.

2.4.1 REENVIO DE ARTIGOS

O manuscrito revisado, contendo as modificações destacadas com marcatexto ou em outra cor, deverá ser enviado pela guia "Revisões" da plataforma de submissão da revista Medicina (Ribeirão Preto), acompanhado de uma "carta-resposta" que inclua uma lista detalhada, ponto a ponto, de como os comentários de cada um dos revisores foram abordados.

2.5 TAXAS DE PUBLICAÇÃO

Não são cobradas taxas para submissão e processamento dos artigos, exceto para a publicação de anais de congressos, conforme descrito adiante.

2.5.1 TRADUÇÃO PARA LÍNGUA INGLESA

Visando a internacionalização da revista, a partir de Janeiro de 2021 todos os artigos submetidos em língua portuguesa ou espanhola, caso aprovados para publicação na Revista Medicina (Ribeirão Preto), serão publicados também em língua inglesa. A tradução para o inglês é de inteira responsabilidade dos autores. Recomenda-se que a tradução seja feita por um profissional especializado, pois a revista se reserva o direito de devolver o manuscrito para correção caso o julgue mal traduzido.

2.6 POLÍTICA DE PREVENÇÃO AO PLÁGIO EM PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

A revista Medicina (Ribeirão Preto) publica exclusivamente material original, ou seja, material que não foi publicado e nem está em revisão em outro periódico. Para detectar ocorrências de texto similar em manuscritos submetidos para publicação, são usados softwares específicos para prevenção de plágio.

Quando houver suspeita de plágio, o artigo poderá ser rejeitado para revisão ou publicação conforme julgamento pelos editores. Alternativamente, autores poderão ser convidados a prestar esclarecimentos, havendo a possibilidade de correção do texto com nova redação.

A reprodução de trechos ou da integralidade de outros artigos sem dar o devido crédito à fonte é inaceitável, bem como a produção de muitos artigos com quase o mesmo conteúdo pelos mesmos autores. O autoplágio ocorre quando autores escrevem vários manuscritos em periódicos diferentes que foram modificados apenas ligeiramente, o que não é considerado ético.

Se o plágio for detectado após a publicação, o conselho editorial poderá solicitar uma retratação pelos autores, emitir uma correção ou retirar o artigo. Pesquisadores não podem apresentar resultados obtidos por terceiros como se os tivessem produzido e devem reconhecer o trabalho de outros usado em suas pesquisas, citando-as e descrevendo como influenciaram a direção e o curso de seu estudo.

2.7 PERIODICIDADE

A revista Medicina (Ribeirão Preto) é uma revista eletrônica com publicação trimestral. A partir de Janeiro de 2021 o sistema de publicação será em fluxo contínuo (rolling pass).

3. CATEGORIA DOS MANUSCRITOS

3.1 ARTIGO ORIGINAL

São artigos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas originais, utilizando abordagens quantitativas ou qualitativas de interesse geral para área da saúde. Deverão conter as seções: "Introdução, Métodos, Resultados, Discussão e

Conclusão” que poderão, algumas vezes, necessitar de subtítulos dentro dessas seções para melhor organizar o conteúdo.

Os artigos originais devem ser enviados juntos a uma carta de apresentação. Ensaio clínico devem seguir a diretriz CONSORT e estudos observacionais devem seguir a diretriz de redação STROBE que são preenchidas e enviadas em conjunto com o artigo.

a) Introdução Fornecer um contexto e os conceitos essenciais ao projeto, assim como declarar o propósito específico ou o objetivo da investigação, a lacuna do conhecimento que se pretende preencher, ou a hipótese a ser testada pela pesquisa. Sugerimos a restrição às citações de referências diretas, sem incluir dados ou conclusões do estudo que está sendo relatado. Sugerimos de 3 a 5 parágrafos na introdução com a explicitação dos objetivos ao final.

b) Métodos Parte do manuscrito que permite que as pessoas que acessam os dados sejam capazes de reproduzir os resultados. O princípio orientador da seção de métodos deve ser clareza sobre como e por que o estudo foi investigado daquela maneira em particular. A seção de métodos pode ser subdividida e detalhada para facilitar a compreensão. Nesta seção, deve-se incluir uma declaração para informar que a pesquisa foi aprovada ou foi isentada de apreciação pelo comitê de ética responsável.

c) Resultados Os resultados deverão ser apresentados em sequência lógica no texto, nas tabelas e figuras. Restringir tabelas e figuras àquelas informações necessárias para explicar o argumento do artigo e como dados de apoio. Usar gráficos como alternativa a tabelas com muitos dados. Não duplicar os dados em gráficos e tabelas. Não repetir informações dos gráficos e tabelas no texto.

d) Discussão Os resultados deverão ser apresentados em sequência lógica no texto, nas tabelas e figuras. Restringir tabelas e figuras àquelas informações necessárias para explicar o argumento do artigo e como dados de apoio. Usar gráficos como alternativa a tabelas com muitos dados. Não duplicar os dados em gráficos e tabelas. Não repetir informações dos gráficos e tabelas no texto.

e) Conclusão Essa sessão deve responder de forma objetiva às formulações dos objetivos.

3.2 ARTIGO DE REVISÃO

Trata-se de artigos de revisão crítica da literatura sobre um tema ou problema específico. Somente serão aceitas as revisões sistemáticas e metanálise. As submissões para esta seção deverão ser feitas seguindo a diretriz PRISMA e o checklist comentado deve ser enviado junto com o texto. Espera-se que os artigos de revisão sejam de autoria de pessoas com reconhecida experiência na área de estudo, a fim de garantir que a revisão crítica da literatura esteja instrumentalizada pela experiência real na questão formulada. Qualquer outro tipo de texto de revisão somente será publicado a convite dos editores.

3.3 RELATO DE CASO

As submissões para esta seção deverão ser feitas seguindo a diretriz CARE. Deve-se inicialmente apresentar o caso, descrever os procedimentos diagnósticos e

apresentar as imagens relativas a exames complementares histopatológicos ou de imagem. Os autores devem enfatizar os aspectos inovadores ou inusitados do caso, que o diferenciam de alguma forma e justificam sua publicação, como nos exemplos a seguir: 1. Apresentação clínica incomum de uma doença comum que tenha dificultado o seu diagnóstico; 2. Doença rara na qual o diagnóstico diferencial deve ser apontado; 3. Doença comum de tratamento ainda não consolidado. A CONEP deliberou documento obrigando a presença de TCLE previamente aprovado para relato de caso. Nos casos de óbito, mesmo assim deverá ser aprovado pelo CEP tal pedido solicitando formalmente dispensa do TCLE.

3.4 ENSAIOS

Estes textos têm formato livre, sendo sempre recomendável a apresentação inicial de conceitos na introdução e a delimitação dos objetivos a fim de guiar o interesse do leitor. A exploração do tema pode ser organizada na forma que parecer mais adequada para o autor, e é recomendável que seja encerrada com conclusões ou considerações finais.

3.5 TEMAS DE ENSINO EM SAÚDE

Estes textos têm formato livre, sendo sempre recomendável a apresentação inicial de conceitos na Introdução e a delimitação dos Objetivos a fim de guiar o interesse do leitor. A exploração do tema pode ser organizada na forma que parecer mais adequada para o autor, e é recomendável que seja encerrada com conclusões ou considerações finais. Quando estes artigos envolverem algum tipo de experimentação, deverão ser organizados segundo a estrutura descrita para os artigos originais.

3.6 GESTÃO EM ORGANIZAÇÕES DE SAÚDE

Estes textos têm formato livre, sendo sempre recomendável a apresentação inicial de conceitos na Introdução e a delimitação dos Objetivos a fim de guiar o interesse do leitor. A exploração do tema pode ser organizada na forma que parecer mais adequada para o autor, e é recomendável que seja encerrada com conclusões ou considerações finais. Quando estes artigos envolverem algum tipo de experimentação, deverão ser organizados segundo a estrutura descrita para os artigos originais.

3.7 SUPLEMENTOS

Os suplementos são fascículos de uma revista com temáticas específicas. Em geral estão relacionados a eventos (também chamados „anais de eventos”) ou versam sobre um assunto específico, selecionado a partir de uma proposta dos editores ou dos próprios autores, sendo chamados „suplementos temáticos”.

Enquanto a publicação da revista Medicina (Ribeirão Preto) ocorria de forma impressa, os suplementos temáticos serviam como verdadeiros livros ou manuais do assunto selecionado, assim era muito conveniente que todos os artigos estivessem no mesmo fascículo. Todavia, com a migração da publicação da revista exclusivamente para o meio eletrônico e o final dos fascículos para que a publicação passe a ser contínua, os editores entendem que não há necessidade de atrasar a

publicação de artigos para que se agrupem por tema visto que poderão ser identificados por qualquer ferramenta de busca bibliográfica. Nesses casos, os autores interessados em organizar publicações temáticas são convidados a entrar em contato direto com os editores da revista.

Os anais de congresso podem ser publicados na revista Medicina (Ribeirão Preto) quando os eventos estiverem diretamente relacionados à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP ou ao Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, contando com docentes em seus quadros organizadores e comissões científicas. Para a publicação de resumos de trabalhos científicos apresentados em eventos, será cobrada uma taxa, relacionada às despesas de revisão dos textos e preparo editorial.

4. SEÇÕES DO MANUSCRITO

Apresentamos abaixo os requisitos gerais para todos os tipos de manuscritos a serem submetidos à revista Medicina (Ribeirão Preto).

4.1 FOLHA DE ROSTO/PÁGINA INICIAL

Incluir os itens abaixo:

- a. Título do artigo no idioma da submissão e em língua inglesa – sucintos, chamativos e representativos do conteúdo do manuscrito (não há um limite rígido para o tamanho do título);
- b. Título abreviado/resumido no idioma da submissão (limitado a até 50 caracteres incluindo letras e espaços);
- c. Nome completo dos autores, separados por vírgula, na ordem em que devem aparecer na versão final, com indicação de afiliação por meio de número sobrescrito;
- d. Afiliação (Instituição, cidade, estado, país) dos autores, precedidos de números sobrescritos correspondentes; Ex: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Pediatria, Ribeirão Preto, SP, Brasil;
- e. Titulação (título máximo de pós-graduação, atividade profissional e/ou acadêmica relevante) e URL completa do registro no ORCID iD;
- f. Indicação sobre as contribuições específicas de cada autor para o trabalho submetido, inserindo as iniciais dos autores envolvidos em cada uma das tarefas listadas, Conforme descrito em REQUISITOS DE AUTORIA
- g. Informar as fontes de apoio ou financiamento que tenham contribuído para o desenvolvimento do trabalho;
- h. Na seção de agradecimentos incluir os “não autores” Informando abaixo do seu(s) nome(s) uma breve descrição das contribuições específicas à pesquisa.

Observação: Será considerado para indexação o vínculo profissional mais forte para autores com mais de uma afiliação institucional.

4.2 RESUMOS

Os autores precisam garantir que o resumo represente com precisão o conteúdo do texto.

Artigos originais, revisões sistemáticas e metanálises requerem resumos estruturados (objetivos, métodos, resultados e conclusões); ensaios clínicos incluirão os itens que o grupo CONSORT identifica como essencial. Relatos de caso requerem resumos “não-estruturados”, que descrevem de forma sucinta e objetiva o artigo, sua importância clínica, desfechos e conclusão sumária em um único parágrafo. Recomendamos o limite de até 400 palavras no resumo.

4.3 PALAVRAS-CHAVE / DESCRITORES

Incluir, após o resumo e abstract, entre 3 e 5 palavras-chave e keywords separadas por ponto e vírgula. Os descritores deverão ser obtidos, obrigatoriamente, no vocabulário DeCS e/ou MeSH.

4.4 TEXTO (PADRONIZAÇÃO)

O texto de um manuscrito só pode ser aceito como um arquivo do Microsoft Word criado com o MS Word como um documento "doc" "docx" ou "rtf".

No arquivo da versão a ser submetida use de preferência a fonte Arial, tamanho 12 com espaçamento simples; inclua o título, resumo e palavras-chave (no idioma da submissão e em língua inglesa), texto (estruturado conforme a categoria do manuscrito contendo as tabelas e figuras) e referências.

Não identifique no corpo do texto informações dos autores e instituição à qual pertencem de forma a assegurar uma revisão cega. 12 Observar os quantitativos de palavras recomendadas do texto principal no quadro de resumo.

4.5 TABELAS

As tabelas capturam informações de maneira concisa e as exibem eficientemente e não deverão conter dados previamente informados no texto. Sugerimos limitar o número máximo de tabelas conforme o quadro de resumo.

São inseridas no texto principal, numerando-as sequencialmente, juntamente com seus títulos e enviadas no Word (.doc) ou Excel (.xls), não como uma imagem.

O título da tabela deve ser claro, explicativo e deve ser colocado acima da mesma, no canto superior esquerdo, logo após a palavra “Tabela” acompanhada de sua numeração (Tabela 1, Tabela 2, etc).

Os marcadores (*, †, ‡, §, //, ¶, #, **, ††, etc) são indicados no rodapé da tabela. Linhas verticais e diagonais não devem ser usadas em tabelas; em vez disso, recuo e espaço vertical ou horizontal devem ser usados para agrupar dados.

4.6 FIGURAS (FOTOGRAFIA, GRÁFICO, IMAGEM ENTRE OUTROS)

As Figuras incluem ilustrações, imagens, esquemas ou qualquer outro elemento gráfico que não seja uma tabela e devem ser numeradas de forma sequencial com chamadas no texto. Sugerimos limitar o número máximo de figuras conforme o quadro de resumo.

O título da figura deve fornecer explicação de maneira concisa de forma que o leitor compreenda do que se trata sem necessidade de se remeter ao texto. As legendas

acrescentam informações sobre aspectos das figuras que necessitem detalhamento. Observe que não deve haver título na parte superior da figura.

É de responsabilidade do(s) autor(es) obter permissão do detentor dos direitos autorais para reproduzir figuras (ou tabelas) que foram publicadas anteriormente em outros lugares. Se forem usadas fotografias de pessoas, os sujeitos não devem ser identificáveis ou suas fotografias devem estar acompanhadas por consentimento escrito.

Utilizar figuras em alta resolução (mínimo de 300 dpi), nos formatos JPG, GIF ou TIFF. Caso sejam enviadas figuras com resolução inadequada, os autores serão convidados a substituí-la por outra de melhor qualidade.

4.7 ABREVIações E NOMENCLATURAS

Quando se mencionar pela primeira vez um termo a ser abreviado, deve-se descrevê-lo inteiramente e a seguir escrever a abreviação apropriada entre parênteses. Não use abreviações no título e limite seu uso no resumo e no texto.

Encorajamos o uso de unidades do sistema internacional de medidas (SI): s por segundo; min por minuto; h por hora; L por litro; m por metro; nomes de espécies (por exemplo, *Homo sapiens*), genes, mutações, genótipos e alelos devem estar em itálico.

As medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser relatadas em unidades métricas (metro, quilograma ou litro) ou em seus múltiplos decimais.

4.8 REFERÊNCIAS

Os autores devem fornecer referências diretas de fontes originais de pesquisas sempre que possível. Listas menores de trabalhos “originais-chave” muitas vezes servem tão bem quanto listas mais exaustivas de referências.

As citações ao longo do texto são feitas por números em sobrescrito antes da pontuação, sem espaços:

De acordo com Moura¹⁵, o índice de vacinação...

...de forma significativa¹. (detalhe importante: observar que o ponto é inserido após a citação).

...foi descrita considerando alérgenos inalados²², na ocasião... (a vírgula deverá ser inserida após a citação).

Se duas ou mais referências forem citadas em sequência, apenas a primeira e a última devem ser digitadas, separadas por um traço (exemplo:⁷⁻¹¹).

As referências ficam organizadas de acordo com a ordem em que são citadas no texto e padronizadas no estilo Vancouver.

Sugerimos limitar o número máximo de referências conforme o quadro de resumo.

4.9 QUADRO RESUMO

Tipo de artigo	Nº de autores	Título (nº max. Caracteres)	Resumo (nº máximo de palavras)	Texto principal (nº máximo de palavras)	Nº de tabelas / figuras	Referências
Artigo original	8	Sem limite	400	7000	8	40
Artigo de revisão	6	Sem limite	400	7000	8	80
Relato de caso	6	Sem limite	400	3000	6	20
Demais categorias	6	Sem limite	400	7000	10	50