



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Marcus Vinicius Corrêa dos Santos

Avaliação da qualidade do sono, biomarcadores de efeito e condições da exposição em guardas de endemias do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos

Rio de Janeiro

2022

Marcus Vinicius Corrêa dos Santos

Avaliação da qualidade do sono, biomarcadores de efeito e condições da exposição em guardas de endemias do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ariane Leites Larentis.

Coorientadoras: Prof.^a Dr. Liliane Reis Teixeira e Prof.^a Dr. Isabele Campos Costa Amaral.

Rio de Janeiro

2022

Título do trabalho em inglês: Assessment of sleep quality, biomarkers of effect and exposure conditions in endemic workers at the state of Rio de Janeiro exposed to pesticides.

O presente trabalho foi realizado com apoio de Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) - Código de Financiamento 001.

S237a Santos, Marcus Vinicius Corrêa dos.
Avaliação da qualidade do sono, biomarcadores de efeito e condições da exposição em guardas de endemias do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos / Marcus Vinicius Corrêa dos Santos. -- 2022.
119 f. : il. color.

Orientadora: Ariane Leites Larentis.
Coorientadores: Liliane Reis Teixeira e Isabele Campos Costa-Amaral.
Tese (Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente), Rio de Janeiro, 2022.
Bibliografia: f. 103-108.

1. Saúde do Trabalhador. 2. Exposição Ocupacional. 3. Redes Reguladoras de Genes. 4. Qualidade do Sono. 5. Agente de Combate às Endemias. I. Título.
CDD 363.11

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Rede de Bibliotecas da Fiocruz com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecário responsável pela elaboração da ficha catalográfica: Cláudia Menezes Freitas - CRB-7-5348
Biblioteca de Saúde Pública

Marcus Vinicius Corrêa dos Santos

Avaliação da qualidade do sono, biomarcadores de efeito e condições da exposição em guardas de endemias do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Aprovada em: 24 de outubro de 2022.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Arthur Sant`anna Feltrin
Lieber Institute for Brain Development

Prof. Dr. John Fontenele Araújo
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof.^a Dra. Katia Soares Poça
Instituto Nacional do Câncer

Prof.^a Dra. Jamila Alessandra Perini
Universidade do Estado do Rio de Janeiro Zona Oeste

Prof.^a Dra, Liliane Reis Teixeira (Coorientador)
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – Centre de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana

Prof.^a Dra, Isabele Campos Costa Amaral (Coorientador)
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – Centre de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana

Prof.^a Dra, Ariane Larentis (Orientador)
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca – Centre de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana

Rio de Janeiro

2022

AGRADECIMENTOS

Agradecer é reconhecer que a produção do conhecimento é sempre um processo coletivo e contínuo de aprendizado.

Aos sindicalistas e militantes da Saúde do Trabalhador, em especial aos trabalhadores do Sindisprev/RJ, Sintrasef e Sindisaúde/RJ, sujeitos centrais do propósito dessa tese.

Aos meus professores, meus mestres que me guiaram na formação no campo da Saúde do Trabalhador e na Saúde Coletiva, em especial minhas orientadoras: - Dr^a Ariane Leites Larentis, DR^a Liliane Reis Teixeira, DR^a Dr^a Isabele Campos Costa Amaral, que me apoiaram e tiveram a compreensão das dificuldades, da necessidade de retrocessos na execução dos estudos originais, diante dos desafios colocados a todos nós que passamos por esse grave período de emergência sanitária da Covid-19, no Brasil e no mundo, cujo objetivo maior foi sobreviver e infelizmente interromper as linhas de pesquisa planejadas no início do doutorado.

Apesar de não realizar o projeto sobre metilação, quero reconhecer o esforço de todos no sentido de buscar outras propostas com a mesma população de trabalhadores o qual assumimos o compromisso de estudar suas questões de saúde e buscar respostas para sua proteção nos ambientes de trabalho.

Certamente, todas marcaram positivamente esse período da minha formação. Ao Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente da ENSP/Fiocruz, pelo suporte das secretarias e professores, ao Laboratório de Toxicologia do CESTE/ENSP/Fiocruz e às instituições parceiras, que contribuíram com o desenvolvimento e verificação das análises do estudo.

A minha mãe Juliana, minha parceira pesquisadora, cujo rigor científico e reconhecimento me orientam no caminho da ética nos estudos da área de Saúde do Trabalhador.

Ao meu irmão Maurício, companheiro de jornada, que sempre torce pelas minhas conquistas, sonhos, desejos e construções nessa caminhada na biológica e agora na Saúde Coletiva.

E, por fim, porém não menos importante, meu agradecimento a todos os trabalhadores, em especial aos Agentes de Combate as Endemias, sujeitos centrais deste estudo, os quais sempre serão prioridade das conquistas e mudanças que almejamos construir nos ambientes de trabalho saudáveis, centrado na dignidade e direitos humanos. Com a certeza de que nossos esforços visam subsidiar a luta pela proteção à saúde dos trabalhadores, direito fundamental.

A todos, minha profunda gratidão pela trajetória engendrada na ética da produção da ciência e do conhecimento crítico!

RESUMO

Os distúrbios do sono afetam milhões de pessoas em todo o mundo. No Brasil, Agentes de Combate as Endemias (ACE) estão submetidos à exposição crônica aos agrotóxicos (neurotóxicos e/ou cancerígenos), seja durante a mistura; aplicação ou no armazenamento (que muitas vezes ficam armazenados no local de trabalho). O objetivo desta tese foi avaliar a qualidade do sono de acordo com os biomarcadores de efeito e padrões do sono dos ACE do Estado do Rio de Janeiro. Para isso, apresenta-se a tese no formato de três artigos. No primeiro estudo foi realizada mineração de texto para análise sistemática de genes diferencialmente expressos, em pessoas expostas ao benzeno e malathion. Após análise topológica, foram identificados os genes com maior interconectividade para exposição ao benzeno (IL8, KLF, JUN e SERTAD1) e ao malathion (HRAS e STAT3). O segundo estudo transversal com 515 ACE, descreve características sociodemográficas e ocupacionais e qualidade sono. A maioria dos respondentes eram homens (74,0%), cor preta e parda (73,4%), idade média 56 anos (DP=6,1). A média de pontuação global do Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) foi de 6,7. Mulheres apresentaram pior pontuação PSQI (>5), com prevalência de 67,2% entre as mulheres e 54,9% entre os homens ($p=0,009$). Mulheres tiveram médias de escore global do PSQI (8,12) mais elevada do que homens (6,31), indicando pior qualidade do sono ($p=3,83 \times 10^{-5}$). Eficiência do sono média ponderada foi melhor no grupo ocupacional sem contato com agrotóxicos (87,26%). O terceiro estudo transversal analisou a qualidade do sono e os efeitos moduladores sistêmicos em 66 ACE, aplicando o actígrafo. A pontuação média de qualidade do sono foi de 7,8 pontos no score PSQI e cerca de 60% da população estudada, foi classificada como com sono não saudável (PSQI > 5). Os trabalhadores apresentaram, em média, entre 5 e 6 horas de tempo total de sono, eficiência de 80% desse tempo total de sono (Ef) e vigília após o início do sono de cerca de 60 minutos. A estabilidade e variabilidade foram de 0,48 e 0,80 respectivamente. Houve correlação positiva dos níveis do hormônio T4 Livre com o tempo total de sono (p -valor <0,05). Verificou-se, também, que a variabilidade intradiária teve correlação negativa com hormônio. Os dados da presente tese contribuem para o conhecimento sobre o impacto de múltiplos genes e de avaliações da qualidade do sono, com o propósito de compreender como as exposições químicas ambientais afetam à saúde dos trabalhadores.

Palavras-chave: saúde do trabalhador; agente de combate às endemias; exposição ocupacional; redes de genes; qualidade do sono.

ABSTRACT

Sleep disorders affect millions of people around the world. In Brazil, Endemic Workers (ACE) are submitted to chronic exposure to pesticides (neurotoxics and/ or carcinogens) either during mixing; application or storage (which are often stored at the workplace). The objective of this thesis was to evaluate sleep quality according to the biomarkers of effect and sleep patterns of the ACE of the State of Rio de Janeiro. For this, the thesis is presented in the format of three articles. In the first study, text mining was performed for systematic analysis of differentially expressed genes in people exposed to benzene and malathion. After topological analysis, genes with the highest interconnectivity for benzene (IL8, KLF, JUN and SERTAD1) and malathion (HRAS and STAT3) exposure, were identified. The second cross-sectional study with 515 ACEs describes sociodemographic and occupational characteristics and sleep quality. Most respondents were men (74.0%), black and brown (73.4%), mean age 56 years (SD=6.1). The average overall Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) score was 6.7. Women had a worse PSQI score (>5), with a prevalence of 67.2% among women and 54.9% among men ($p=0.009$). Women had higher overall PSQI scores (8.12) than men (6.31), indicating worse sleep quality ($p=3.83 \times 10^{-5}$). Weighted average sleep efficiency was better in the occupational group without contact with pesticides (87.26%). The third cross-sectional study analyzes sleep quality and systemic modulating effects in 66 ACE, applying the actigraph. The Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) was used to assess hormonal changes correlated with poor sleep quality. The average score of sleep quality was 7.8 points in the PSQI score and about 60% of the studied population was classified as having unhealthy sleep ($PSQI > 5$). The workers presented, on average, between 5 and 6 hours of total sleep time, present an efficiency of 80% of this total sleep time (Ef) and wakefulness after sleep onset of about 60 minutes. Stability and variability were 0.48 and 0.80 respectively. There was a positive correlation of levels of the hormone T4 Free with total sleep time (p -value $<0,05$). It was also verified that intraday variability had a negative correlation with hormone. The data of this thesis contribute to the knowledge about the impact of multiple genes and sleep quality assessments, to understand how environmental chemical exposures, affect workers' health.

Keywords: occupational health; endemic diseases; occupational exposure; gene network; sleep quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Total de agrotóxicos e afins registrados no Brasil (2005-2022)	15
Figura 2 -	Interação do processo S e do processo C.....	20
Figura 3 -	Integração das ciências Ômicas e a análise em rede.....	25
Figura 4 -	Grafo direcionado e não direcionado.....	27
Artigo 1		
Figura 1 -	Benzene biological interaction network.....	44
Figura 2 -	Overview of the 5 clusters obtained from the benzene gene-gene network using the MCODE software.....	45
Figura 3 -	Most relevant nodes for the subnetworks predicted by the MCODE analysis in benzene gene-gene network. Centrality calculated by node degree, betweenness and eigenvector.....	47
Figura 4 -	Most relevant nodes for Malathion PPI network analysis in STRING. Centrality calculated by node degree, betweenness and eigenvector.....	50
Figura 5 -	Benzene Biological Processes Overrepresentation Analysis (BiNGO).....	52
Figura 6 -	Malathion Biological Processes Overrepresentation Analysis (BiNGO).....	53
Artigo 3		
Figura 1 -	Distribuição dos exames clínicos e laboratoriais por qualidade de sono e sexo.....	88
Figura 2 -	Correlação do hormônio T4 Livre com parâmetros do ciclo vigília-sono.....	91

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 -	List of interaction network categories demonstrating the information for the creation of the biological network interactions and the data source researched by GeneMANIA.....	39
Tabela 2 -	Benzene list of most important studies obtained herein and their selected genes.....	41
Tabela 3 -	Malathion list of most important studies obtained herein and their selected genes.....	43

Artigo 2

Tabela 1 -	Número e proporção de qualidade do sono segundo fatores sociodemográficos em Agente de Combate as Endemias. Rio de Janeiro, 2020 a 2022.....	69
Tabela 2 -	Prevalência e proporção de doenças e alterações clínicas em Agente de Combate as Endemias de acordo com qualidade do sono. Rio de Janeiro, 2020 a 2022.....	70
Tabela 3 -	Prevalência e Razão de Prevalência de doenças e alterações clínicas, segundo sexo e faixa etária em Agente de Combate as Endemias. Rio de Janeiro, 2020 a 2022.....	71
Tabela 4 -	Escore global e componentes do sono distribuídos por sexo, de acordo como Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). Rio de Janeiro, agosto de 2020 a agosto de 2022.....	72
Tabela 5 -	Eficiência do sono de acordo com média ponderada por grupo ocupacional.....	72

Artigo 3

Tabela 1 -	Características do sono e Ritmo circadiano, mensurados por questionário de qualidade do sono e actimetria.....	86
Tabela 2 -	Características clínicas e laboratoriais por sexo e qualidade do sono (PSQI).....	87
Tabela 3 -	Correlação do hormônio T4 Livre com parâmetros do ciclo vigília-sono..	90
Tabela 4 -	Marcadores de exposição.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Agente de Combate às Endemias
ACHE	Acetilcolinesterase
ACS	Agente Comunitário de Saúde
ACT	Actímetro
CNES	Cadastro Nacional de Estabelecimentos em Saúde
CESTEH	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
CIATS	Centros de Informação e Assistência Toxicológica
D	Despertares
DEG	Genes Diferencialmente Expressos
DDT	Diclorodifeniltricloreto
DNA	Ácido Desoxiribunúcleico
EDTA	Eletroencefalográfico
EF	Eficiência do Sono
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FUNASA	Fundação Nacional da Saúde
GEO	Gene Expression Omnibus
GGT	Gama Glutamil Transferase
IARC	International Agency for Research on Cancer
IV	Variabilidade Intradiária
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
MS	Ministério da Saúde
MCODE	Deteção de Complexos Moleculares
MFS	Molecular Functions
NSQ	Núcleo Supraquiasmático
NPCRA(IS)	Teste não paramétrico de estabilidade intermediária
NPCRA(IV)	Teste não paramétrico de variabilidade intermediária
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana da Saúde
OF	Organofosforado
PA	Pontos de Apoio

P	Prevalência
PSQI	Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh
RP	Razão de Prevalência
SRQ	Self-Reporting Questionnaire
SINDAG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Defesa Agrícola
SINDSPREV-RJ	Sindicato dos Trabalhadores Federais da Saúde, Trabalho e Previdência no Estado do Rio de Janeiro
SINTSAUDERJ	Sindicato dos Trabalhadores em Combate às Endemias e Saúde Preventiva no Estado do Rio de Janeiro
VPP	Variação Proporcional Percentual
WASO	Tempo de vigília após o início do sono

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1	SIITUAÇÃO DOS AGROTÓXICOS NO BRASIL.....	15
2.2	EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS EM TRABALHADORES DO CONTROLE DE VETORES E PRAGAS URBANAS DA ÁREA DE SAÚDE PÚBLICA.....	16
2.3	FATORES DE RISCOS QUE CONTRIBUEM PARA EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS NO TRABALHO DOS ACE.....	17
2.4	REGULAÇÃO DO CICLO DE SONO-VIGÍLIA.....	19
2.4.1	Ciclo de vigília-sono e imunidade.....	22
2.5	EXPOSIÇÃO MÚLTIPLA AOS AGROTÓXICOS.....	22
2.6	BIOLOGIA DE SISTEMAS E TEORIA DE REDES COMPLEXAS PARA ANÁLISES BIOLÓGICAS.....	24
2.6.1	Teoria dos Grafos e Definições.....	26
2.6.1.1	O conceito de grafo.....	26
2.6.1.2	Grafos direcionados e não direcionados.....	26
3	JUSTIFICATIVA.....	28
4	OBJETIVOS.....	29
4.1	OBJETIVO GERAL.....	29
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
5	METODOLOGIA.....	30
5.1	POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	30
5.1.2	Dados sociodemográficos e processo de trabalho.....	30
5.2	ANÁLISE EM REDES COMPLEXAS.....	30
5.2.1	Banco de dados.....	30
5.2.2	Desenho de rede.....	31
5.2.3	Centralidade.....	31
5.2.4	Cluster.....	31
5.2.5	Ontologia.....	31
5.3	ANÁLISE DOS PADRÕES DE SONO.....	31
5.4	ANÁLISES BIOLÓGICAS.....	32
6	RESULTADOS.....	33

6.1	ARTIGO 1 - NETWORK ANALYSIS OF BIOMARKER ASSOCIATED WITH OCCUPATIONAL EXPOSURE TO BENZENE AND MALATHION.....	34
6.2	ARTIGO 2 - IMPACTO DOS FATORES SOCIODEMOGRÁFICOS E OCUPACIONAIS ASSOCIADOS A QUALIDADE DO SONO EM GUARDAS DE ENDEMIAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.....	60
6.3	ARTIGO 3 – QUALIDADE DO SONO E AVALIAÇÕES LABORATORIAIS EM GUARDAS DE ENDEMIAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.....	81
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	99
	REFERÊNCIAS.....	103
	APÊNDICE – CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE TRABALHADORES DE ACORDO COM ATIVIDADE ATUAL.....	109
	ANEXO A – QUESTIONÁRIO DO ÍNDICE DE QUALIDADE DO SONO (PSQI) UTILIZADO.....	110
	ANEXO B – MATERIAL DE PRODUÇÕES E FORMAÇÃO DURANTE O DOUTORADO.....	114
	ANEXO C - ENTRADA DO QUESTIONÁRIO ONLINE.....	118

1 INTRODUÇÃO

Em 2008, o Brasil alcançou a posição de maior consumidor de agrotóxicos, em grande parte às custas da indústria agrícola (CARNEIRO et al., 2015). O aumento do consumo de agrotóxicos levou, conseqüentemente, ao aumento da exposição ocupacional de trabalhadores que o utilizam, direta ou indiretamente em seus processos de trabalho. Os principais grupos expostos ocupacionalmente são os trabalhadores do setor agrícola, profissionais ligados à área veterinária, à indústria de formulação, síntese e vendas de agrotóxicos e os profissionais da saúde pública, como os trabalhadores do controle vetorial, conhecidos como “mata-mosquitos”, Agentes de Saúde Pública, Guardas de Endemias ou Agente de Combate às Endemias (ACE) (AZEVEDO; MEYER, 2017).

Os trabalhadores do controle vetorial, com mais de 25 anos de atuação, principalmente na promoção da saúde, são um dos grupos de trabalhadores que, ao longo do seu histórico, sofrem e sofreram exposição continuada a diversos tipos de agrotóxicos, alguns neurotóxicos e/ou cancerígenos, como os organoclorados (BHC e DDT), organofosforados (temefós e malationa), carbamatos (bendiocarbe), piretroides (deltametrina), benzoilureia (diflubenzuron), inclusive por aqueles já banidos em outros países ou restritos por acordos internacionais multilaterais (SILVEIRA, 2020, CESTEH, 2021).

Esses trabalhadores têm exposição combinada e cumulativa, compreendida como o somatório das substâncias que o trabalhador se expõe, sua natureza, variações de intensidade, as dimensões de tempo, duração (intermitência, picos) e as atividades realizadas, com evidência de gradiente dose-resposta (WORLD HEALTH ORGANISATION, 2020, ROTTER et al., 2018). Entretanto, comumente a avaliação de toxicidade dos agrotóxicos e seus efeitos à saúde só se leva em consideração a exposição a um único composto, o que não corresponde à experiência de exposição em que se dão os processos de produção/trabalho e de consumo, nos quais o contato envolve mais de uma substância química, com o agravamento concomitante por outros potenciais agravos ou condições de vida (CARNEIRO, et al. 2015). Diante disto, as abordagens baseadas em redes complexas vêm auxiliando a compreensão das relações moleculares entre fenótipos antes tratados de forma distintos.

Entre os sintomas decorrentes da exposição crônica aos agrotóxicos, destaca-se a restrição aguda e crônica do sono, que afeta o desempenho psicomotor, consolidação da memória, criatividade, riscos na tomada de decisão, redução do desempenho e os riscos de acidentes (DIEKELMANN; BORN, 2010; LI et al., 2019).

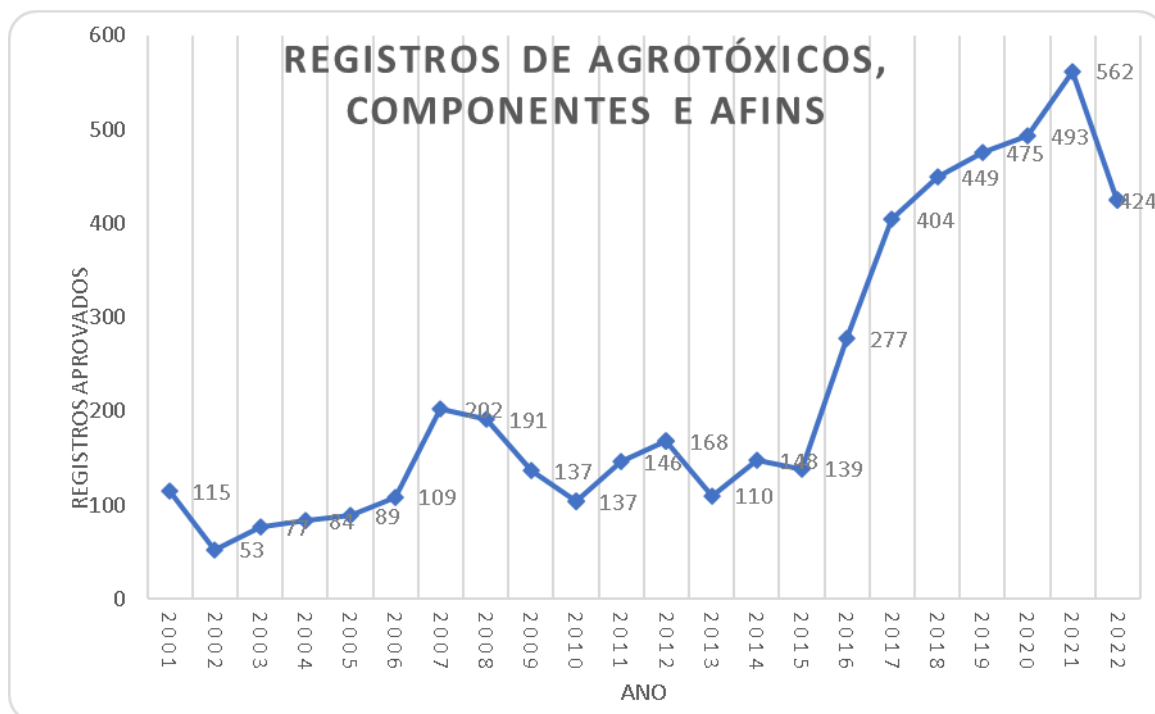
Diante dessa realidade o objetivo desta tese é contribuir com o conhecimento sobre as exposições ocupacionais dos ACE e o impacto associados aos efeitos de múltiplos genes, proteínas e vias biológicas, bem como das alterações do sono em ambiente de trabalho com exposições múltiplas. Ações de assistência e vigilância a populações de riscos, como os ACE, demandam cuidados das autoridades sanitárias e estudos sobre a temática. para produzir informações que subsidiem a definição de políticas públicas, voltadas para reduzir os efeitos à saúde, das exposições que esse grupo de trabalhadores foi submetido ao longo dos anos no exercício serviço público, no controle de pragas e vetores.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SITUAÇÃO DOS AGROTÓXICOS NO BRASIL

No Brasil, resultado de décadas de políticas voltadas para o interesse econômico, negligenciando os efeitos à saúde relacionados ao uso intensivo de agrotóxicos, em grande parte às custas da indústria agrícola, fez com que o país alcançasse a posição de maior consumidor de agrotóxicos no mundo, em 2008 (CARNEIRO et al., 2012, 2015). Nos últimos 6 anos é verificado um aumento significativo no número de registros de agrotóxicos (Figura 1). No ano de 2002 foram concedidos 53 registros de agrotóxicos e no ano de 2021 562 registros e até agosto de 2022 já foram 424 registros concedidos. Os registros mostram uma tendência crescente nos últimos vinte anos, o que desperta bastante preocupação sobre os efeitos que esses produtos podem ter no ambiente (MAPA, 2022).

Figura 1 Total de agrotóxicos, componentes e afins registrados no Brasil (2001-2022)



Número total de agrotóxicos, componentes e Afins com registro aprovado no Brasil, entre os anos de 2001 e 2022. Atualização de 26/08/2022. Fonte: (MAPA, 2022).

A liberação cada vez maior de produtos químicos acaba facilitando sua aquisição que repercute no aumento do volume de químicos utilizados no país e no aumento do consumo de agrotóxico, o que consequentemente, impacta no crescimento de doenças relacionadas com a exposição, tanto ocupacional como ambiental. Os principais grupos expostos

ocupacionalmente são os trabalhadores do setor agrícola, profissionais ligados à área veterinária, à indústria de formulação, síntese e revendas de agrotóxicos, e profissionais da saúde pública, como os agentes de combate às endemias que atuam no controle de vetores e pragas urbanas (AZEVEDO; MEYER, 2017).

2.2 EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS EM TRABALHADORES DO CONTROLE DE VETORES E PRAGAS URBANAS DA ÁREA DE SAÚDE PÚBLICA

No Brasil, os trabalhadores e população em geral estão submetidos, desde 1967, ao uso intensivo de organofosforados utilizados pelos programas de saúde pública brasileiros para o controle vetorial da dengue. Descrita por Augusto e colaboradores (1998) como uma estratégia “perdulária, perigosa e inócua”, por centrar no vetor as ações de controle dessa doença mediante o uso de venenos nocivos para a saúde humana. A estratégia de risco adotada, além ineficiente na erradicação das epidemias e do mosquito, contribuiu para intensificação do quantitativo de veneno e desencadeou o ciclo resistente aos organofosforados em todo o país. Dessa forma, o país passou da condição epidêmica para endêmica/epidêmica, os casos passaram a ter maior letalidade e as crianças ficaram mais suscetíveis (AUGUSTO et al., 1998).

Além dos efeitos tóxicos agudos baseados na inibição da acetilcolinesterase, que leva ao acúmulo de acetilcolina, a exposição crônica aos organofosforados tem sido abordada como fator causal em uma variedade de doenças humanas que envolvem os sistemas nervoso e imune (BAJGAR, 2013; RAY; RICHARDS, 2001).

Apesar do conhecimento sobre os danos à saúde, o organofosforado mais utilizado no combate aos mosquitos, foi o *malathion* (COLEONE, 2014). O *malathion* é classificado pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) no grupo 2A como provavelmente carcinogênico para humanos, possuindo evidências limitadas para linfoma não-Hodgkin e câncer de próstata humana e evidências suficientes em animais e *in vitro* para sua carcinogenicidade, dano ao DNA e cromossômico e alterações hormonais (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2017).

Entre os trabalhadores expostos, destacam-se os agricultores e os trabalhadores de saúde pública, que atuam no controle de vetores de doenças como a dengue, nas empresas desinsetizadoras e desratizadoras, que devido ao processo produtivo tem maior potencial de contaminação. Os casos de intoxicação aguda de aplicadores que atuam nas áreas urbanas são frequentemente registrados pelos CIATs (Centros de Informação e Assistência Toxicológica), em todo o país (LONDRES, 2012). As fases de exposição dos ACE aos

inseticidas se dá desde o fracionamento e preparação da calda até sua aplicação nos ambientes de controle vetorial, ou seja, envolvem todas as etapas do processo produtivo, desde o armazenamento, transporte e descarte do produto além da limpeza e manutenção dos equipamentos (BRASIL, 2019).

O controle vetorial da dengue, em todo o país, envolve mais de noventa e quatro mil ACE (CADASTRO NACIONAL DE ESTABELECIMENTOS DE SAÚDE, 2020), quando selecionados pela denominação de agentes de endemia, guardas de endemias e mata mosquitos. Esses trabalhadores têm por objetivo as ações de educação em saúde junto à comunidade e informação à população sobre os riscos das doenças, realizando visitas aos imóveis e outras localidades para prevenir e controlar doenças como dengue, malária, leishmaniose e doença de Chagas entre outras (HOLFS et al., 2019). Porém, o modelo químico-dependente observado na lavoura é o que permanece para ser aplicado à saúde pública. O que se torna grave, pois o que se espera são ações sanitárias para proteção da saúde, e não submissão a situações de potenciais danos à saúde.

2.3 FATORES DE RISCOS QUE CONTRIBUEM PARA EXPOSIÇÃO AOS AGROTÓXICOS NO TRABALHO DOS ACE

Dentre os fatores de riscos, a insuficiência de ações de formação e informação sobre os agravos associados ao uso de agrotóxicos, orientações equivocadas sobre a manipulação dos produtos e ausência de acompanhamento da saúde têm impactos diretos na saúde pública e ocupacional (AUGUSTO et al., 2015). Exemplo disso, foi o caso do Temefós, que por falta de informação adequada, os trabalhadores eram induzidos a calcular a diluição da quantidade do veneno pelo tamanho das caixas d'água, com o auxílio de uma tabela, sem considerar o volume de água. Augusto e colaboradores (1998), observaram que em Pernambuco usavam o dobro da concentração de Temefós, que a utilizada em São Paulo. Comumente, o procedimento era realizado por medidas de colheres/bisnagas, levando em consideração o tamanho físico do reservatório, independentemente do volume de água que no momento estivesse dentro dele. Tal conduta levava ao aumento da concentração do Temefós e do risco de potencial contaminação de pessoas que utilizam esta água "potável". Nesse estudo, constataram que os agentes de saúde ficavam com as mãos cheias da substância tóxica e, como não foram instruídos a respeito do risco, expuseram-se a esse produto químico sem nenhuma precaução (AUGUSTO et al., 1998).

De modo geral, várias são as questões relacionadas a maior exposição aos agrotóxicos, seus efeitos a saúde e sua circulação no ambiente decorrentes dos processos

produtivos e de consumo. Formação e informação devem estar acessíveis para os trabalhadores, mas também a todos, tanto dos níveis governamentais como da sociedade civil (CARNEIRO et al., 2015).

Outro importante fator de risco refere-se aos locais de trabalho. Os trabalhadores, geralmente são alocados em Pontos de Apoio (PA), onde, em sua grande maioria, não são locais adequados para proteção da saúde e segurança das suas atividades cotidianas que considerem a possibilidade contaminação química no meio ambiente do trabalho. Segundo relatos dos trabalhadores, muitos locais são pequenos, com banheiros desativados e porões e saletas são, muitas vezes, utilizados como estoque para equipamentos e agrotóxicos (MEIRELLES et al., 2022). Porém, nestes espaços pequenos, insalubres e mau higienizados, a ventilação é precária, levando a inalação de gases tóxicos provenientes dos agrotóxicos que ficam armazenados (MEIRELLES et al., 2022).

Em relação aos EPI's, sabe-se que raramente são fornecidos aos trabalhadores, e quando são adquiridos, constata-se que estes EPI's são de má qualidade e inadequados para as atividades realizadas pelos guardas, por não oferecerem a devida proteção. Para agravar, tais equipamentos envelhecem e se desgastam sem que haja substituição deles em tempo hábil (MEIRELLES et al., 2022).

Os ACE, com mais de 25 anos de atuação, principalmente na promoção da saúde enfrentam a precariedade de vínculos e dos direitos trabalhistas vivenciados até o ano de 2006, onde enfrentaram instabilidade no exercício da função e no tempo de trabalho, bem como ausência do cargo nas repartições públicas. Essas condições de trabalho, e os péssimos ambientes contribuíram para que esses trabalhadores tivessem maior exposição as doses constantes de produtos químicos nocivos à saúde. Situação essa, agravada pela falta de treinamento, de EPI's adequados, exames toxicológicos, de exames periódicos para avaliação e controle de indicadores de saúde. Também, no que se refere a questão organizacional, contribuiu para a exposição o descaso de seus superiores com as medidas de proteção à saúde e segurança nos ambientes, tendo como consequência o adoecimento e mortes de muitos destes trabalhadores (LARENTIS, 2022).

Além disso, os principais sintomas relatados de intoxicação aos agrotóxico são: - cefaleia, fraqueza, mal-estar, dor de estômago, sonolência, perda de peso, fraqueza muscular, depressão, irritabilidade, insônia, anemia, dermatites, alterações hormonais, problemas imunológicos, efeitos na reprodução (infertilidade, malformações congênitas, abortos), doenças hepáticas, respiratórias, neurológicas, podendo muitas vezes ser irreversíveis, incluindo paralisias e vários tipos de câncer (LONDRES, 2012). Um dos sintomas decorren-

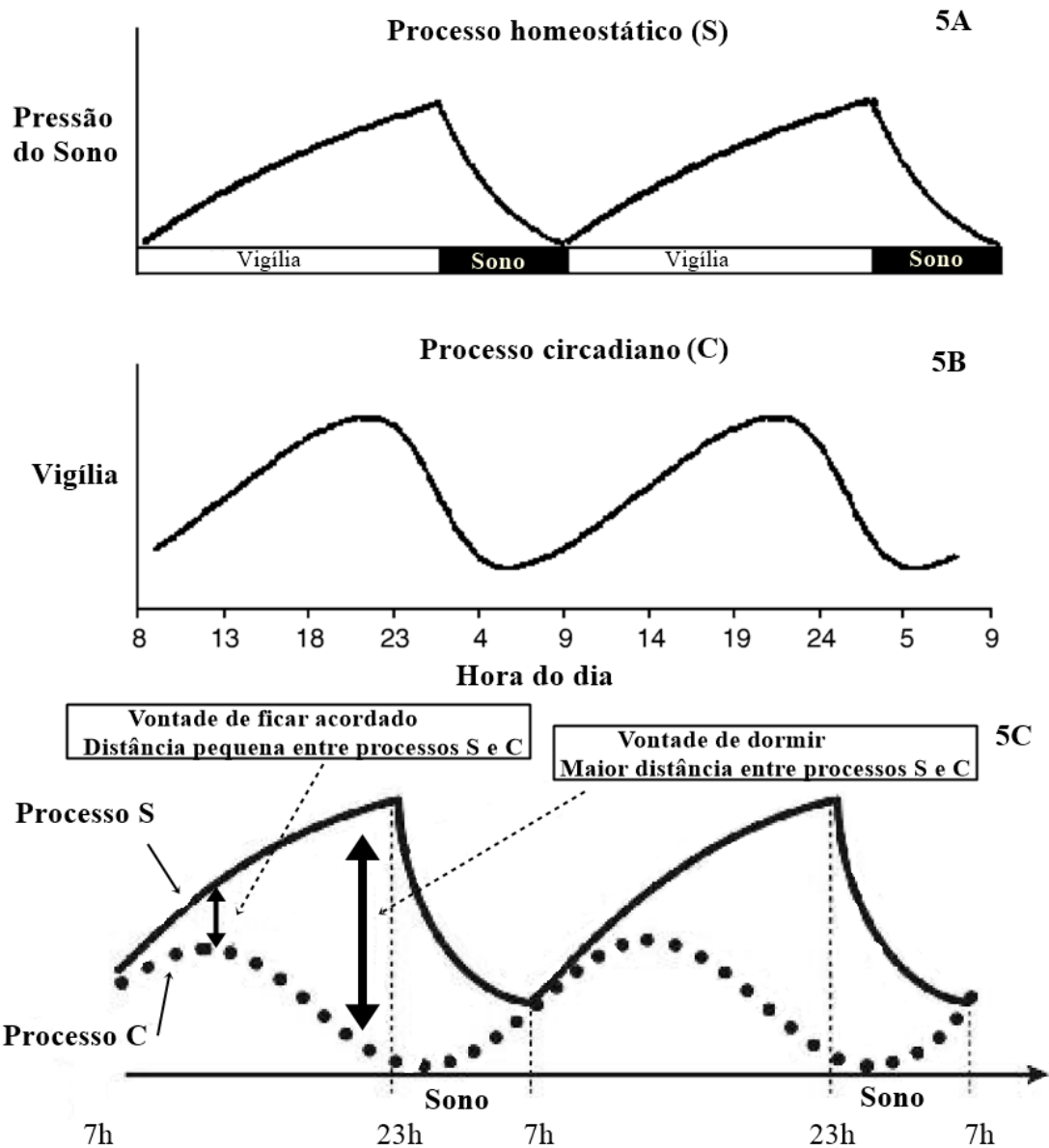
tes da exposição crônica aos agrotóxicos é a restrição aguda e crônica do sono, que afeta o desempenho psicomotor, consolidação da memória, criatividade, riscos na tomada de decisão, redução do desempenho e os riscos de acidentes (DIEKELMANN; BORN, 2010; LI et al., 2019).

2.4 REGULAÇÃO DO CICLO DE SONO-VIGÍLIA

O ciclo de sono-vigília em humanos saudáveis ocorre num período de 24 horas e é composto por aproximadamente um terço de sono e dois terços de vigília. O ciclo sono-vigília está sob regulação de processos circadianos e homeostáticos distintos e em interação (ROEHRS; ROTH, 2019).

O processo homeostático (processo S) é a necessidade de dormir que se desenvolve durante a vigília e diminui durante o sono (Figura 2A), que tem como marcador biológico os níveis de adenosina acumulados no SNC e sua intensidade é refletida através da medição da atividade de ondas lentas (<12 HZ), registrado pela eletroencefalografia (DIJK et al., 1997). Este processo homeostático é sobreposto a um processo circadiano (processo C) que está relacionado à hora do dia, é independente da quantidade de sono anterior e se opõe ao impulso homeostático do sono (Figura 2B).

Figura 2 Interação do processo S e do processo C.



A pressão homeostática do sono aumenta durante a vigília e se dissipa rapidamente durante o sono (2A). O processo circadiano está relacionado à hora do dia, é independente da quantidade de sono anterior e se opõe ao processo homeostático (2B). A distância entre as linhas curvas dos processos S e C, é um reflexo direto do desejo de dormir, quanto maior a distância entre as duas, maior é o desejo (2C) Fonte: (BORBÉLY, 1982; WALKER, 2018)

O ciclo circadiano é um processo que organiza o sono e a vigília e outros processos biológicos de acordo com o ciclo claro-escuro diário de 24 horas (ACHERMANN; BORBÉLY, 2017). A compreensão do sistema circadiano é mais avançada do que a do sistema homeostático. Em 2017, o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina foi concedido a Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash e Michael W. Young "por suas descobertas de mecanismos moleculares que controlam o ritmo circadiano" (THE NOBEL PRIZE IN

PHYSIOLOGY OR MEDICINE 2017). No nível celular, os autores descreveram genes e proteínas que controlam os ritmos circadianos. Além do nível celular, a entrada claro-escuro do trato retino-hipotalâmico alimenta o núcleo supraquiasmático (NSQ), que é considerado o sincronizador biológico principal. Os eferentes do NSQ transmitem sinais que sincronizam uma variedade de órgãos e sistemas.

A fase circadiana em humanos é tipicamente documentada registrando a temperatura corporal ou o início da secreção de melatonina (DUFFY et al., 1998). A menor temperatura corporal diária do corpo humano ocorre entre 3 e 5 da manhã, com uma queda secundária ocorrendo ao meio-dia e o pico que ocorre entre as 17h e as 20h (PARMEGGIANI, 2003). A duração dos episódios de sono e a latência para o início do sono são paralelos ao ritmo da temperatura corporal, demonstrando a interação dos componentes homeostático e circadiano. O NSQ também conduz ritmos hormonais e metabólicos como o hormônio estimulador da tireoide, cortisol, prolactina, hormônio do crescimento e melatonina, em que todos mostram um ritmo circadiano (ROEHRS; ROTH, 2019).

Agudamente, a prolactina e o hormônio do crescimento estão ligados ao sono, o que significa que sua liberação é retardada quando o sono é retardado, independentemente da fase circadiana. Por outro lado, o cortisol está diretamente ligado ao ciclo claro-escuro e seu ritmo circadiano permanece independente do tempo do sono. A melatonina é responsável de comunicar o ciclo claro-escuro através para os sincronizadores em todo o corpo, sua produção e liberação é controlada pelo NSQ, ela é expressa durante a escuridão da noite e suprimida durante a luz do dia (ROEHRS; ROTH, 2019).

Em circunstâncias normais, a interação entre a homeostase do sono e o ciclo circadiano resulta em um ciclo vigília-sono adequado às necessidades fisiológicas, como pode ser observado na Figura 2C.

Além de estar envolvido com a conservação do metabolismo energético, a consolidação da memória, a termorregulação, a maturação neural e a saúde mental (GONNISSEN; HULSHOF; WESTERTER-PLANTENGA, 2013; PARMEGGIANI, 2003; DIEKELMANN; BORN, 2010), oscilações no ciclo vigília-sono estão diretamente relacionados com disfunção imune e neurocognitiva (RICO-ROSILLO; VEGA-ROBLEDO, 2018).

2.4.1 Ciclo de vigília-sono e imunidade

O papel que o sono desempenha na manutenção e função do sistema imunológico não é totalmente esclarecido. Há evidências de que a privação do sono tem efeitos importantes na função imunológica, nos níveis de citocinas e nos marcadores de inflamação, diminuindo também a função das células NK, linfócitos T e monócitos (BOLLINGER et al., 2009; IRWIN, 2006). O sono melhora a defesa imune por vários mecanismos, entre outros, o aumento da memória imune e as funções pró-inflamatórias e ativadoras que se desenvolvem durante o sono (BESEDOVSKY; LANGE; BORN, 2012; DIEKELMANN; BORN, 2010; GONNISSEN; HULSHOF; WESTERTER-PLANTENGA, 2013). Patel *et al.* (2012) demonstraram que a duração do sono reduzida está associada a um maior risco de infecções graves.

A redução do sono entre quatro e seis horas por noite tem diversos efeitos adversos, incluindo danos ao estado neurocognitivo, humor e metabolismo (SPIEGEL; LEPROULT; VAN CAUTER, 1999). Outros autores sugerem que o sono reduzido aumenta o risco de desenvolver aterosclerose, doenças cardíacas, resistência à insulina, obesidade e doenças cardiometabólicas (AXELSSON et al., 2013; AYAS et al., 2003a; LASSELIN et al., 2015; AYAS et al., 2003b; PATEL et al., 2009; RANGARAJ; KNUTSON, 2016). Além de levar a acidentes ambientais e de trabalho (LAUGSAND et al., 2014).

Essas alterações, associados à imunidade, também demonstram interagir com as defesas do corpo nos níveis molecular e celular. Adicionalmente, existem claras dependências recíprocas entre a duração e a qualidade do sono e as respostas imunes contra patógenos virais, bacterianos e parasitários, os quais alteram os padrões de sono (BESEDOVSKY; LANGE; HAACK, 2019).

2.5 EXPOSIÇÃO MÚLTIPLA AOS AGROTÓXICOS

A avaliação de toxicidade dos agrotóxicos e seus efeitos a saúde é realizada com objetivo de verificar os potenciais efeitos adversos decorrentes da exposição humana a agentes ou situações perigosas. Entretanto, geralmente, só se leva em consideração a exposição a um único composto, o que não corresponde à realidade em que se dão os processos de produção/trabalho e de consumo, nos quais o contato envolve mais de uma substância química, com o agravamento concomitante por outros potenciais agravos ou hábitos de vida (CARNEIRO et al., 2015). Frequentemente, a mistura de agrotóxicos é situação muito presente na realidade do agricultor e de agentes de saúde (guardas de endemias), seja por causa das impurezas, dos inertes, seja pela aquisição de produtos

associados ou pelo uso simultâneo de várias substâncias (SILVA et al., 2005).

A maioria dos estudos não considera a interação que os diversos compostos químicos podem estabelecer entre si e os sistemas biológicos, sendo que essa interação pode até mesmo modificar o comportamento tóxico de um determinado produto, acarretando efeitos cumulativos e sinérgico sobre a saúde do grupo de trabalhadores expostos.

Este é um aspecto extremamente importante em relação à análise dos riscos e danos à saúde da população exposta e ao meio ambiente. Ressalte-se que a exposição diversa a vários agentes ocorre pela mistura de produtos que ocorre pelo menos, em dois momentos do processo de trabalho, pela ação direta dos trabalhadores, no período de aplicação, mas também no processo de produção onde as próprias empresas realizam as misturas. De acordo com o SINDAG (2003), entre os produtos que estavam em comercialização no ano de 2003, vários deles eram misturas de ingredientes ativos, tais como 2,4-D + Diazinon (herbicida), Benalaxy + Mancozeb (fungicida) ou Deltametrina + Triazophos (inseticida).

A exposição combinada às substâncias químicas pode causar três tipos de efeitos sobre a saúde humana: independentes, sinérgicos (aditivos ou potencializados) e antagônicos (OGA *et al.*, 2008). Apesar de ainda pouco estudada, alguns trabalhos demonstram que a resposta do organismo humano diante das exposições laborais combinadas pode ser influenciada por algumas características pessoais, tais como tabagismo, alcoolismo e o estado nutricional (SILVA et al., 2005).

Silva *et al* (2005) advertem ainda, quanto a:

- 1) Substâncias químicas e temperaturas elevadas – o aumento da temperatura atmosférica aumenta a volatilidade e a pressão de vapor das substâncias químicas, aumentando sua disponibilidade para inalação e/ou absorção cutânea. Aumenta também a velocidade circulatória, aumentando ainda mais a absorção.
- 2) Substâncias químicas e esforço laboral – o esforço físico aumenta a ventilação pulmonar. Assim, o organismo se vê exposto a maiores quantidades de tóxicos existentes no ar. (SILVA et al., 2005)

Estes aspectos da temperatura elevada e esforços físicos são relevantes para dimensionar parâmetros e intensidade de absorção, tendo em vista o meio e a forma como trabalhadores desenvolvem as atividades de preparo e aplicação dos agrotóxicos num determinado tempo e organização em que estão presentes no processo os elementos ao mesmo tempo, das misturas de agrotóxicos e os ritmos de trabalho que contribuem com os fatores desencadeante do aumento da exposição.

Comumente, as avaliações de saúde não incluem nas mensurações esses fatores (SILVA *et al.*, 2005^a a) e, portanto, não garantem a segurança da exposição a determinado

produto químico. Portanto, as práticas de vigilância ainda não se apoiam em metodologias para avaliação do risco acumulado que dê suporte para a tomada de decisão. Por essa razão o princípio da precaução, deveria ser o foco no que tange o combate as endemias e não um modelo “químico-mosquitocêntrico”, que de acordo com Augusto e colaboradores (1998):

a) a dengue é uma doença provocada por um vírus que se aloja no mosquito *Aedes aegypti*, que o transmite ao homem através da picada; b) o mosquito tem um estágio larvário no seu ciclo de vida que depende de criadouro contendo água parada para seu desenvolvimento; c) se não existissem criadouros para as larvas que se transformam em mosquito, não haveria a doença; um programa eficaz seria aquele que centrasse seu foco na eliminação de criadouros e não no mosquito adulto, que faz gastar inutilmente recursos fundamentais para outras áreas, como o saneamento básico e a educação ambiental. (AUGUSTO *et al.*, 1998)

Embora os conjuntos de dados individuais possam fornecer informações valiosas, as abordagens de biologia de sistemas são necessárias para esclarecer as redes moleculares e celulares afetadas pela exposição e assim identificar todos os mecanismos possíveis relacionados a exposição. De acordo com a teoria dos sistemas, enquanto os indicadores individuais ou os fatores ambientais podem ser elementos-chave em um processo complexo da doença, o fenótipo é determinado pela modulação das vias subjacentes (BERTALANFFY, 2008).

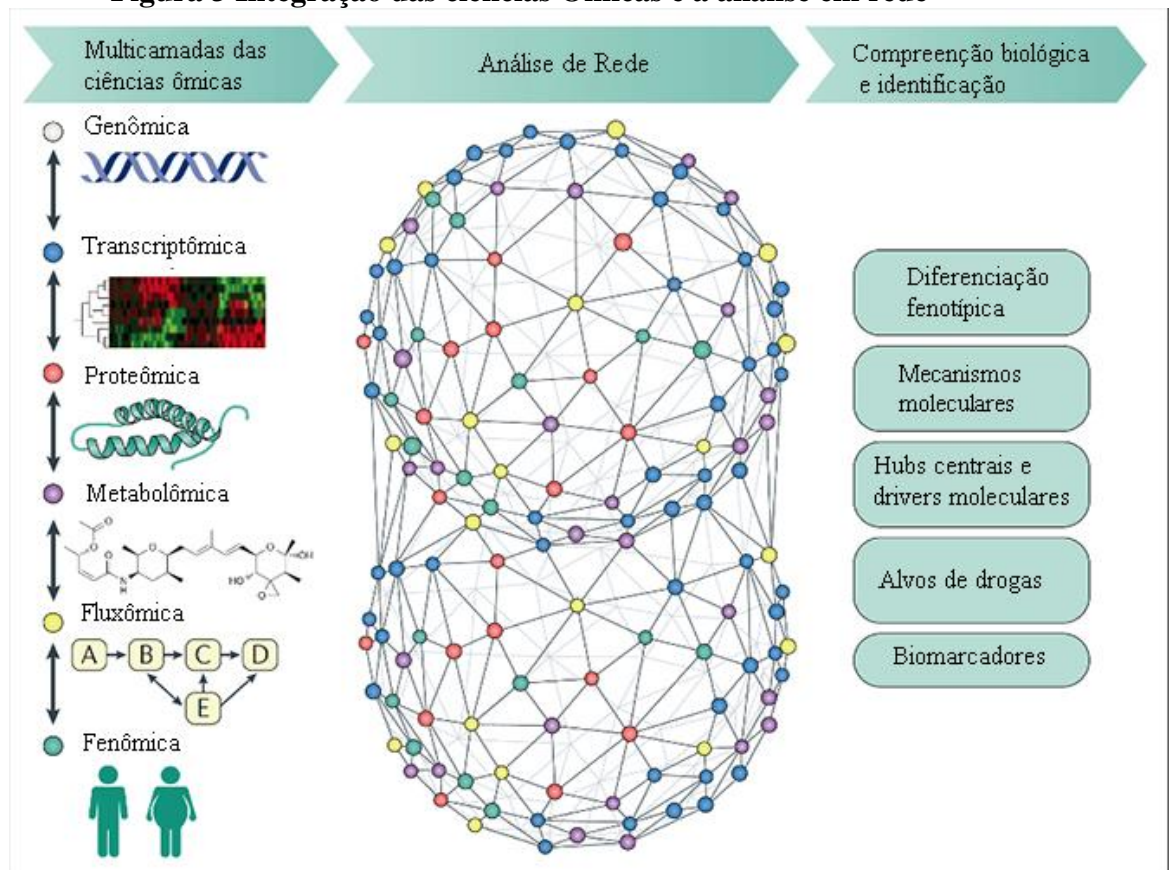
Há partir disso, as abordagens baseadas em sistemas fornecem uma visão abrangente das interações entre o meio molecular, a via e o organismo, com conectividade descrita pelas redes. Portanto ferramentas para categorização sistêmicas são essenciais para otimizar grande bases de dados. Desta forma, a integração de distintas informações moleculares, bem como a análise dos sistemas biológicos de maneira sistêmica é alvo de procedimentos analíticos com base na disciplina denominada Biologia de Sistemas (SANTIAGO *et al.*, 2014). A Biologia de Sistemas tem se tornado uma ciência que atua de maneira integrada com às ciências quantitativas, como a matemática e as ciências da computação. Para isso, métodos computacionais podem ser utilizados com o intuito de simular e modelar sistemas biológicos complexos, possibilitando a geração de conhecimentos que direcionam a investigação sobre os efeitos dos químicos ambientais sobre o organismo (MA'AYAN *et al.*, 2014).

2.6 BIOLOGIA DE SISTEMAS E TEORIA DE REDES COMPLEXAS PARA ANÁLISES BIOLÓGICAS

Dentre as abordagens baseadas em sistemas, a teoria de redes complexas (teoria dos grafos) desempenha um papel importante em uma ampla variedade de disciplinas como

ciência da computação, sociologia, engenharia, biologia molecular e populacional. Nos campos da biologia e da medicina, as aplicações potenciais da análise de rede incluem a identificação de alvos de drogas, determinação da função de uma proteína ou gene, criação de estratégias eficazes para o tratamento de várias doenças ou diagnóstico precoce de distúrbios (PAVLOPOULOS, et al., 2011). Para Santiago et al. (2014) essa área da biologia utiliza abordagens do tipo “*top-down*”, como as ciências “ômicas”, para obter informações moleculares massivas, como o perfil de expressão gênica global, o conjunto de proteínas expressas por uma célula, o padrão de fosforilação dessas proteínas ou ainda o conjunto de metabólitos produzidos a partir de reações enzimáticas. Existem vários domínios biológicos onde técnicas de teoria dos grafos são aplicadas para extração de conhecimento a partir de dados (FIGURA 2).

Figura 3 Integração das ciências Ômicas e a análise em rede



Avanços tecnológicos na geração de dados ômicos, possibilita a caracterização de células ou tecidos nos estados de saúde e doença. No entanto, não é capaz de revelar o comportamento complexo das células ou tecidos em diferentes estados. Neste contexto, redes biológicas podem ser utilizadas para integração de dados multiômicos e revelar diferenças fenotípicas e mecanismos moleculares subjacentes envolvidos na ocorrência da doença para identificar novos biomarcadores e alvos de drogas. Fonte: (MARDINOGLU, et al., 2018).

2.6.1 Teoria dos Grafos e Definições

2.6.1.1 O conceito de grafo

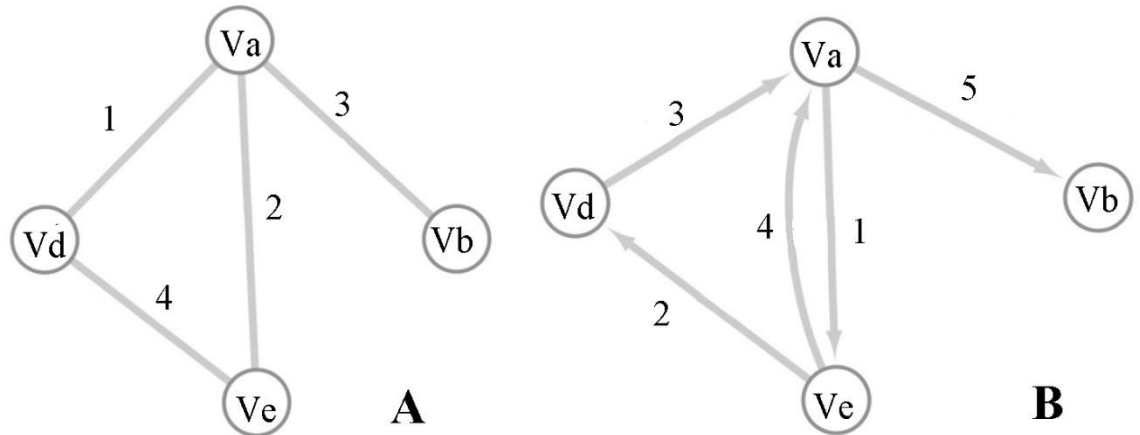
Um grafo “G” é definido como um par (V, E) onde “V” é um conjunto de vértices que representam os nós e “E” um conjunto de arestas que representam as conexões entre os nós. Em um grafo simples, dois dos vértices em “G” estão ligados se existe uma aresta $(va, vb) \in E(G)$ conectando os vértices va e vb no grafo G tal que $va \in V(G)$ e $vb \in V(G)$, neste caso, dizemos que a e b são vizinhos (CHAO, 2009) (FIGURA 3A).

2.6.1.2 Grafos direcionados e não direcionados

Um grafo direcionado “G” consiste em um conjunto de vértices ou nós, $V(G) = \{va \dots vn\}$, juntamente com um conjunto de arestas, $E(G)$. E cada aresta $E(G)$ pode ser pensada como conectando o nó inicial va ao nó terminal vb (CHAO, 2009) (FIGURA 3B). Grafos direcionados são mais adequados para a representação de esquemas que descrevem caminhos biológicos ou procedimentos que mostram a interação sequencial de elementos em um ou vários pontos no tempo e o fluxo de informações em toda a rede. Estas são principalmente redes metabólicas, de transdução de sinal ou reguladoras (KHOLODENKO, HANCOCK & KOLCH, 2010). Por exemplo: em uma rede reguladora transcricional, os nós representam genes com arestas demonstrando as relações transcricionais entre eles. Este seria um grafo direcionado porque, se o gene A regula o gene B, então há uma direção natural associada à borda entre os nós correspondentes, começando em A e terminando em B.

Um grafo não direcionado também consiste em um conjunto de vértices e uma aresta. No entanto, não há direção associada às arestas neste caso (FIGURA 3A). Portanto, os elementos de $E(G)$ são simplesmente dois subconjuntos de elementos de $V(G)$, em vez de pares ordenados como gráficos direcionados (CHAO, 2009). Esta é uma característica das redes de interação proteína-proteína (PPI), essas redes descrevem as interações físicas diretas entre as proteínas no proteoma de um organismo e não há direção associada às interações em tais redes. Como por exemplo a relação evolutiva de duas proteínas, coocorrência na literatura ou coexpressão em alguns experimentos, resultando assim em três conexões diferentes, cada uma com significados diferentes. Portanto, as redes PPI são tipicamente modeladas como grafos não direcionados, nos quais os nós representam proteínas e as arestas representam interações. Um exemplo de banco de dados PPI que leva em consideração os diferentes tipos de interações entre proteínas é o String (2017).

Figura 4 Grafo direcionado e não direcionado



Um grafo “G” não direcionado (A) ou direcionado (B), consiste em um conjunto de vértices “V” interconectados pelas arestas “E” (dois vértices interconectados são chamados de vizinhos). $G = (V, E)$; $V = \{V_a, V_b, V_d, V_e\}$; $E = \{1, 2, 3, 4, 5\}$. O grau de um vértice é o número de arestas com as quais ele é incidente, simbolizado por $d(V_a)$. $V(G_A) = 4$; $V(G_B) = 4$; Vértice “b” é vizinho de “a”; em G_A $d(V_a) = 3$; em G_B $d(V_a) = 4$. Fonte (Elaborado pelo Autor)

Redes de interação proteína-proteína (PPI), redes bioquímicas, redes de regulação transcricional, transdução de sinal ou redes metabólicas são as categorias de rede destacadas na biologia de sistemas, muitas vezes compartilhando características e propriedades.

3. JUSTIFICATIVA

Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classificou os inseticidas organofosforado como possivelmente carcinogênicos para humanos (grupo 2B) e o *malathion* como provavelmente carcinogênicos para humanos (grupo 2A), sendo possível associar o *malathion* a Linfoma não-Hodgkin - LNH (GUYTON, 2015). Esse grupo de produtos químicos foram largamente utilizados no trabalho dos ACE, na Saúde Pública.

Entretanto, a exposição ocupacional a agrotóxicos e o desenvolvimento de doenças ainda configuram um grande desafio na associação entre os componentes químicos que são empregados em agrotóxicos, a múltipla exposição e seus efeitos sistêmicos. Diversos estudos (LI et al., 2019; WANG, 2020) têm investigado a relação dos distúrbios do sono em trabalhadores rurais com exposição cumulativa (JIANGPING, et al. 2019). Porém ainda persistem lacunas sobre a interação entre qualidade do sono e a exposição aos agrotóxicos em trabalhadores da saúde pública.

Portanto, estudos que considerem os distúrbios do sono se tornam fundamentais na compreensão do processo saúde-doença relacionados aos mecanismos complexos, como os causados por intoxicações exógenas. Com o auxílio das abordagens em redes complexas da medicina de rede é possível compreender como as exposições químicas ambientais afetam a função das células humanas, proporcionando melhores análises sobre os mecanismos que as envolvem e dos distúrbios do sono. Para isso, também se torna necessário a realização de investigações sobre a influência dos fatores sociodemográficos e ocupacionais associados à qualidade do sono e prevalência de doenças nessa população para fins de avaliar parâmetros do ciclo atividade-reposo em ACE e contribuir com o conhecimento sobre as exposições ocupacionais.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar qualidade do sono de acordo com biomarcadores de efeito e padrões do sono em uma população de agentes de combate as endemias/guardas de endemias expostos aos agrotóxicos no Estado do Rio de Janeiro.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a exposição do *malathion* e benzeno, por meio de rede de interação e centralidade associada a pesquisa de cluster, enriquecimento ontológico dos módulos e identificação de genes-hub.

- Analisar os fatores sociodemográficos e ocupacionais associados a qualidade do sono e prevalência de doenças autorreferidas pelos ACE;

- Avaliar o ciclo atividade-reposo em uma amostra da população de agentes de combate às endemias.

- Comparar os dados de sono, com dados clínicos e os fatores sócio demográficos na população de agentes de combate às endemias

5. METODOLOGIA

Este é um subprojeto, do Projeto integrador multicêntrico: Estudo do impacto à saúde de Agentes de Combate às Endemias/Guardas de Endemias pela exposição a agrotóxicos no Estado do Rio de Janeiro. Sobre o CAAE 03323018.4.0000.5240

5.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

A população do estudo, é composta por ACE expostos aos agrotóxicos, em especial o *malathion*, no trabalho. A abrangência do estudo envolve os trabalhadores federais do Estado do Rio de Janeiro.

5.1.2 Dados sociodemográficos e processo de trabalho

Para a coleta dos dados sociodemográficos, das condições de trabalho, histórico de saúde e da qualidade do sono, foi utilizado questionário individual pelo projeto integrador, adaptado para uso em período de pandemia e distanciamento social.

5.2 ANÁLISE EM REDES COMPLEXAS

Os métodos utilizados nesta fase consistiram em seis etapas principais: (1) análise em banco de dados a fim de obter expressão gênica diferencial e outros dados para a criação de redes complexas; (2) formação das interações entre genes, proteínas e/ou químicos por meio de base de dados STRING, STITCHI, *BioGRID*, GeneMANIA, entre outros; (3) construção de rede de interação; (4) análise de centralidade da rede; (5) pesquisa de cluster da rede e análise de enriquecimento ontológico dos módulos e (6) construção de sub-redes (biomarcador), consistindo de nós com valores elevados para todos os parâmetros de centralidade considerados.

5.2.1 Banco de dados

Para a pesquisa em banco de dados se utilizou *gene expression omnibus* (GEO) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>), para dados de expressão; as ferramentas do GENOMESPACE (<http://www.genomespace.org/>), como ArrayExpress para complementar o GEO e Reactome para os dados de vias moleculares; assim como utilização do Agilent Literature Search (<http://www.agilent.com/labs/research/litsearch.html>).

5.2.2 Desenho da rede

rede de interação foi obtida por meio do software de visualização de redes complexas Cytoscape V 3.2 (<http://www.cytoscape.org/>), onde os nós da rede são os dados alvos (podendo ser proteínas, genes, químicos etc.) e os vértices sendo as interações entre os nós.

5.2.3 Centralidade

Para cálculo de centralidade foi utilizado o software Centiscape (<http://www.cbmc.it/~scardonig/centiscape/centiscape.php>). CentiScape é um plugin Java para Cytoscape, uma plataforma de software para análise e visualização de redes de interação molecular. O plugin calcula parâmetros específicos de centralidades que descrevem a topologia da rede e auxilia na identificação dos nós mais importantes em uma rede complexa.

5.2.4 Cluster

Para dividir a rede em pequenas sub-redes, aplicou-se o algoritmo de Detecção de Complexos Moleculares (MCODE). O MCODE é um método automatizado para encontrar clusters (regiões altamente interconectadas) de uma rede.

5.2.5 Ontologia

A ferramenta de ontologia genética de redes biológicas (BiNGO) foi utilizada para categorização de categorias de processos biológicos e funções moleculares de representação funcional, por meio de distribuição hipergeométrica.

5.3 ANÁLISE DOS PADRÕES DE SONO

A qualidade do sono, nos trabalhadores, foi avaliada pelo Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI). Os dados da história ocupacional e qualidade do sono dos ACE foram obtidos por meio de questionário autoaplicável, com acesso on-line, que avaliou sete componentes do sono: qualidade subjetiva do sono, latência do sono, duração do sono, eficiência do sono, distúrbios do sono, uso de medicamentos e disfunção diurna. A pontuação pode variar de 0 a 3 para cada componente, com pontuação total máxima de 21 pontos. Pontuações acima de 5 pontos indicam má qualidade do sono (anexo 1).

Para além do questionário, a fim de obter informações sobre o ciclo atividade/repouso, os agentes de endemias foram orientados a utilizar o actímetro (ACT)

por dez dias consecutivos no braço não dominante. O ACT é um acelerômetro que estima a frequência do movimento, sendo possível coletar os dados de duração do sono, latência do sono, eficiência do sono, duração dos cochilos e despertares noturnos após o início do sono. E concomitantemente, a população da pesquisa deverá preencher os diários de sono/atividade para complementar as informações registradas pelo ACT.

5.4 ANÁLISES BIOLÓGICAS

Sangue e urina foram coletados para análises clínicas de hemograma completo e hormônios tireoidianos TSH e T4 Livre; biomarcadores de efeito, acetilcolinesterase (ACHE), butirilcolinesterase (BCHE), gama glutamil transferase (GGT) MDA e Catalase e de exposição DDT, DDe e HCH, desses trabalhadores.

6. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

Com esse escopo, estruturou-se esta tese cujos resultados encontram-se aqui apresentados sob a forma de três artigos científicos. São eles:

Artigo 1-*Network Analysis of Biomarker Associated with Occupational Exposure to Benzene and Malathion*

Artigo 2 - *Fatores Sociodemográficos e Ocupacionais Associados a Qualidade do Sono em Agentes de Combate as Endemia/Guardas de Endemias da Área de Saúde Pública do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*

Artigo 3 - *Qualidade do Sono em Agentes de Combate às Endemia/Guardas de Endemias do Estado do Rio De Janeiro, Brasil*

O artigo 1, com aplicação do método de medicina de rede, responde a necessidade de sistematizar a integração de distintas informações moleculares, bem como a análise dos sistemas biológicos de maneira sistêmica, mediante procedimentos analíticos tendo como base a disciplina de Biologia de Sistemas.

O artigo 2, sobre fatores associados a alterações do sono, com dados primários, corresponde a operacionalização de medidas de prevalência, tendo como unidade de observação o conjunto dos trabalhadores que responderam ao questionário autorreferido, para verificar características e distribuição sociodemográficas no grupo ocupacional. Visa conhecer a magnitude das alterações potenciais à saúde em relação as doenças crônicas e alterações do sono.

O artigo 3, avalia a saúde a partir em uma subamostra da população respondente, aprofunda exames clínicos, toxicológicos e de actimetria de um grupo de trabalhadores, para estimativas sobre alterações do sono em população exposta aos agrotóxicos. Esse estudo com aplicação do método de avaliação do ciclo atividade-reposo por meio de actimetria, representa a continuidade dos dois estudos anteriores (artigo I e artigo II), para o qual aprofunda-se as análises laboratoriais, entre os grupos de potencialmente expostos ao *malathion* e outros agentes químicos. Estes procedimentos metodológicos visam construir evidências sobre os efeitos à saúde dos trabalhadores expostos.

6.1 ARTIGO 1

Full title

NETWORK ANALYSIS OF BIOMARKER ASSOCIATED WITH OCCUPATIONAL
EXPOSURE TO BENZENE AND MALATHION

Short title

BIOMARKER NETWORK FOR BENZENE AND MALATHION EXPOSURE

Marcus Vinicius Corrêa dos Santos^{1*}, Isabele Campos Costa-Amaral¹, Arthur Sant'Anna Feltrin², Leandro Vargas Barreto de Carvalho¹, Liliane Reis Teixeira¹, Rita de Cássia Oliveira da Costa Mattos¹, Jamila Alessandra Perini^{1,3¶}, David Correa Martins-Jr², Ariane Leites Larentis^{1¶}

¹ Studies Center of Worker's Health and Human Ecology (CESTEH), Sergio Arouca National School of Public Health (ENSP), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ). Rio de Janeiro, RJ, Brazil

²Center for Mathematics, Computation and Cognition - Federal University of ABC. Santo André, SP, Brazil

³Research Laboratory of Pharmaceutical. Pharmacy Unit of the State University Center of the West Zone. Rio de Janeiro, RJ, Brazil

* Corresponding author

e-mail: m.vinicius_csantos@yahoo.com.br (MVCS)

ABSTRACT

Background. Complex diseases, such as those caused by environmental chemicals, are associated with the effects of multiple genes, proteins and biological pathways. A complex disease is not only a consequence of an abnormality in a single gene but is also reflected as disturbances to the complex intracellular and intercellular network that links tissues and organ systems. In this context, the tools of Network Medicine are compatible as a platform to systematically explore not only the molecular complexity of a specific disease, leading to the identification of disease modules and pathways, but also the molecular relationships between apparently distinct phenotypes. Such approach leads to the possibility of better understanding on how environmental chemical exposures affect the function of human cells, providing better perceptions about the mechanisms involved, and helping to monitor/prevent exposure to chemicals such as benzene and malathion.

Objective. Apply network analysis to evaluate possible biological pathways associated with occupational exposure to benzene and malathion.

Methods. We selected differentially expressed genes (DEGs) for exposure to benzene and malathion. The construction of interaction networks was carried out using GeneMANIA for benzene DEGs and STRING for malathion DEGs. The topological properties of the network were calculated using MCODE, BiNGO and CentiScaPe.

Results and discussion: A GeneMANIA network composed of 114 genes and 2,415 interactions was obtained. After topological analysis, five smaller networks were identified. In these subnets, *IL-8*, *KLF6*, *KLF4*, *JUN*, *SERTAD1* and *MT1H* were the most interconnected nodes. In the protein-protein interaction (PPI) network, composed of 67 proteins and 134 interactions, *HRAS* and *STAT3* were identified with the most interconnected nodes. In addition, these nodes (genes and proteins) were considered a putative biomarker, in which the exclusion of a node could produce a strong disturbance in the signaling network.

Conclusions. Path analysis, combined with various types of high-throughput data, reflects biological processes more clearly and comprehensively than analyses involving the evaluation of individual genes. We emphasize central roles played by several important hub genes, such as proteins of the families *IL8*, *KLF*, *KLF*, *JUN* and *SERTAD1* obtained by exposure to benzene, while *HRAS* and *STAT3* are hubs for exposure to malathion.

Key words. Network Medicine. GeneMANIA. Occupational Exposure. Malathion. Benzene.

INTRODUCTION

Complex diseases are associated with the effects of multiple genes, proteins and biological pathways [1]. Therefore, in the case of a complex disease, one should not expect that a single genetic mutation can be identified as the cause. In fact, complex diseases or disorders (e.g., cancer, AIDS, and obesity) stem from dysfunctions from different biomolecular networks, and not only their isolated components (e.g., genes, proteins, and metabolites) [2].

Biological networks are powerful resources for the discovery of genes and genetic modules that drive disease. Biomolecular networks include gene and transcription regulatory networks; protein-protein interaction networks; metabolic, signaling and hybrid networks. With advances in high-throughput measurement techniques, such as microarray, RNA-seq, ChIP-on-chip and mass spectrometry, large-scale biological datasets have been continuously produced. Such data contain detailed information to understand the mechanism of molecular biological systems and have proven to be useful in the diagnosis, treatment and design of drugs for complex diseases or disorders [3].

In this context, the Network Medicine [4] aims to use complex network analysis to find clusters (or modules) in a biological network that could be related to a phenotype of interest, based on a few hypothesis, such as the hypothesis that a PPI network follows a Scale-Free degree distribution and that genes associated with the same (or similar) pathways are clustered closely in the PPI networks — therefore, they have a high probability to interact with each other. This is a fundamental concept that can be used to combine and to amplify signals from individual genes [5], genes with similar expression patterns [6], synthetic lethality [7], or chemical sensitivity [8], which often have similar functions. In addition, genes whose products interact physically [9,4] are part of the same complex [10], display similar three-dimensional structures [11], similar phylogenetic profiles [12] or common protein domains [13]. Therefore, a biological pathway plays an important role in understanding the mechanisms of complex diseases, improving clinical treatment, and revealing drug targets and biomarkers [14]. Such approach brings the possibility of a better understanding on how environmental chemical exposures affects the function of human cells, providing better insights into the mechanisms involved and assisting in the monitoring/prevention of exposure [15]. For instance, benzene is classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as a carcinogen belonging to group I, i.e., carcinogenic to humans [16]. Exposure to benzene is associated with the occurrence of hematotoxicity, acute myeloid leukemia, and myelodysplastic syndromes

[17-21].

Hematotoxicity effects are observed even at relatively low concentrations [22–25], although the hematopoietic toxicity mechanisms of action in benzene exposure remain unclear and are still under study, mainly by applying toxicogenomics techniques [26–28].

As is well known, benzene metabolism creates many reactive elements [29] and exposure to benzene and its metabolites can generate DNA mutations, chromosome insertions and/or deletions, DNA double-strand breaks, apoptosis, oxidative stress, and altered gene expression [28].

Another relevant environmental chemical exposure is related to malathion, which is a likely carcinogen due to the increased risk of cancer associated with its exposure [30, 31]. Farm workers and their children, particularly, face increased risk to develop leukemia and non-Hodgkin's lymphoma due to their exposure to malathion [31-33]. In fact, studies have shown that malathion induces chromosomal and DNA damage in humans [34, 35]. Thus, the IARC – specialized cancer agency of the World Health Organization (WHO) – also classified malathion as 'probably carcinogenic to humans' (Group 2A). However, molecular changes by exposure to malathion were not very explored to date, although neurological malignancies are prevalent in humans.

The biological processes and molecular functions underlying such exposures constitute complex systems [36], which cannot always be designated by a simplistic view such as assigning functions to individual genes, proteins, and other cell macromolecules [37].

Considering these issues, this study adopted a systems biology approach to reconstruct networks of molecular interactions based on differentially expressed genes (DEG) related to benzene and malathion exposure, retrieved from literature text mining. Using some of the Network Medicine hypotheses, such as the disease module and the local hypotheses, our goal is to use network analysis to evaluate possible biological pathways associated with benzene and malathion response. Gene interactions were observed using the GeneMANIA software, while interactions between proteins were observed using the STRING software. The MCODE software was used for the characterization of clusters of different biological processes, and the BiNGO software was used for ontological gene characterization. The Cytoscape software was used to calculate different network centrality metrics from these genes.

METHODS

Data collection

Text mining was carried out using the bibliographic search of NCBI and Agilent Literature Search. Two queries: one with the keywords “benzene gene expression,” “benzene microarray,” “benzene expression,” and “benzene poisoning;” and another with the keywords “malathion gene expression,” “malathion microarray,” “malathion expression,” and “malathion poisoning.”

Construction of protein-protein interaction (PPI) network

The Search Tool for Retrieval of Interacting Genes (STRING 11.0; <http://string-db.org/>) was used to evaluate the protein-protein interaction network (PPI) of DEGs related to malathion exposure. The PPI network was derived from proven experimental statistics such as automated text mining of scientific literature, experimental data, available signaling pathways, PPI database, systematic coexpression, phylogenetic co-occurrence, observation of neighboring genomes and genetic fusion events. We only extracted the edges with a minimum confidence score of 0.7 (high confidence) and max number of interactors at 1st shell with no more than 5 interactors.

Visualization of network and module analysis was carried out with the software Cytoscape (version 3.6.0; <http://www.cytoscape.org/>).

Extended interaction network analysis

The obtained gene list corresponding to benzene exposure was used for a functional and Gene Ontology (GO) analysis, using GeneMANIA (<http://old.genemania.org/>), a tool used for predicting gene function that can be implemented as a plug-in for the Cytoscape networks visualization software (<http://www.cytoscape.org/>) [38].

The biological data sets searched by GeneMANIA, the characteristics considered

for interaction formation, and the data source for the network creation are shown in Table 1.

Table 1 List of interaction network categories demonstrating the information for the creation of the biological network interactions and the data source researched by GeneMANIA.

Network categories	Datasets	Network information	Data source
Co-expression:	Gene expression data.	Two genes are linked if their expression levels are similar across conditions in a gene expression study.	Most of these data are collected from the Gene Expression Omnibus (GEO); .
Physical Interaction:	Protein-protein interaction data.	Two gene products are linked if they were found to interact in a protein-protein interaction study.	These data are collected from primary studies found in protein interaction databases, including BioGRID and PathwayCommons.
Genetic interaction:	Genetic interaction data.	Two genes are functionally associated if the effects of perturbing one gene were found to be modified by perturbations to a second gene.	These data are collected from primary studies and BioGRID.
Shared protein domains:	Protein domain data.	Two gene products are linked if they have the same protein domain.	These data are collected from domain databases, such as InterPro, SMART and Pfam.
Co-localization:	Genes expressed in the same tissue, or proteins found in the same location.	Two genes are linked if they are both expressed in the same tissue or if their gene products are both identified in the same cellular location	
Pathway:	Pathway data.	Two gene products are linked if they participate in the same reaction within a pathway.	These data are collected from various source databases, such as Reactome and BioCyc, via PathwayCommons.

Predicted:	Predicted functional relationships between genes, often protein interactions.	For instance, two proteins are predicted to interact if their orthologs are known to interact in another organism. In these cases, network names describe the original data source of experimentally measured interactions and which organism the interactions were mapped from. E.g. A mouse network predicted from a human network	A major source of predicted data is mapping known functional relationships from another organism via orthology. These data are collected from various source databases, such as BioGRID and I2D orthology
------------	---	--	---

*Source: GeneMANIA network categories *In*: <http://pages.genemania.org/help/>

For the analysis, the default setting of 20 genes was applied, which are the genes that present the highest number of interactions. The software standard was maintained regarding the advanced settings for physical, genetic and interrelated paths, only modifying the co-expression data for articles on genomic leukemia and other hematological diseases.

Identification of molecular complexes

Highly interconnected, or dense, regions may represent molecular complexes. The Molecular Complex Detection (MCODE) algorithm, an automated method for finding clusters (highly interconnected regions) was used to identify sets of molecules that strongly interact with each other in the benzene network. In addition, MCODE standard parameters were maintained (degree cutoff = 2, node score cutoff = 0.2, K-core = 2, and max depth = 100).

GO category representation

The biological network gene ontology (BiNGO) tool was used to perform a GO functional enrichment analysis. The hypergeometric distribution was used for the biological processes and molecular functions of functional overrepresentation categories. Only the over-represented GO categories were considered significant (p-value < 0.05).

Centrality analysis

Centralities are parameters that identify nodes with a relevant position in the global network architecture. The CentiScaPe 2.2 plug-in was used for clusters displaying overrepresentation of GO categories of interest.

CentiScaPe calculates specific centrality parameters, describing the network topology, and assists in identifying the most important nodes in a complex network [39].

According to the connectivity of each node degree, betweenness and eigenvector, the arithmetic means of each centrality parameter were defined to obtain the most connected nodes.

Degree centrality indicates the number of adjacent nodes that are connected to a unique node. If the degree centrality of a given node is much larger than the average degree centrality of the network, such a node is classified as a hub. Hubs in interactive networks tend to be essential, since their exclusion reduces the connectivity of the global network; consequently, they also represent greater biological relevance [40,4]. Betweenness, in its turn, is defined by the number of shortest paths between two nodes that pass through a node of interest [39,41]. The nodes with the highest Betweenness score ('Bottleneck') control most of the information flow in the network - as they present the largest number of shortest paths (between other nodes in the network) passing through. As such, Bottleneck genes (nodes in interactome ranked by betweenness centrality) are related to regulatory functions, representing critical points in the PPI network [42]. The eigenvector defines the node "prestige" of a network, i.e., the eigenvector centrality of a node in a network is large if this node is connected to many central and highly connected nodes [43].

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 96 Human DEGs were selected through an NCBI bibliographic search for articles published between 2010-2014, dealing with quantitative microarray data for environmental and occupational exposure to benzene (Table 2). Additionally, 57 Human DEGs were selected through bibliographic search for articles published with quantitative microarray data for malathion exposure (Table 3).

Table 2 Benzene list of most important studies obtained herein and their selected genes

Reference	Method	Cases	Controls	DEGs
McHale et al. [44]	Microarray	83 cases of benzene exposure ranging from <<1 to >10ppm.	42	16 genes with high expression (<i>SERPINB2</i> , <i>TNFAIP6</i> , <i>IL1A</i> , <i>KCNJ2</i> , <i>PTX3</i> , <i>F3</i> , <i>CD44</i> , <i>CCL20</i> , <i>ACSL1</i> , <i>PTGS2</i> , <i>CLEC5A</i> , <i>IL1RN</i> , <i>PRG2</i> , <i>SLC2A6</i> , <i>GPR132</i> , <i>PLAUR</i>).

Bi et al. [45]	cDNAmicroarray	7 women diagnosed with benzene poisoning.	7	Top 40 genes with altered expression (<i>PTGS2</i> , <i>BAI3</i> , <i>GCL</i> , <i>CYP4F3</i> , <i>MYO47</i> , <i>TRA@</i> , <i>AD022</i> , <i>PRKCH</i> , <i>RASGRP1</i> , <i>FPR1</i> , <i>TGFBR3</i> , <i>GRO1</i> , <i>SEL1L</i> , <i>CSF2RB</i> , <i>IFITM1</i> , <i>STAT4</i> , <i>IFITM2</i> , <i>ABLIM</i> , <i>KIAA1382</i> , <i>SPTBN1</i> , <i>HBB</i> , <i>PRKDC</i> , <i>S100A10</i> , <i>ITGB2</i> , <i>TKT</i> , <i>VAMP8</i> , <i>FOSB</i> , <i>ASAH1</i> , <i>CDC37</i> , <i>SLC25A6</i> , <i>CLN2</i> , <i>ACTA2</i> , <i>CST3</i> , <i>HLA-DMB</i> , <i>ALDH2</i> , <i>LGALS2</i> , <i>LGALS1</i> , <i>ARHB</i> , <i>KLF4</i> , <i>ATF3</i>).
Xing et al. [46]	Microarray (RTPCR)	11	People in the same sector with no symptoms of benzene poisoning.	Decrease in the expression of p15 (<i>CDKN2B</i>) and p16 (<i>CDKN2A</i>).
Sarma et al. [47]	Microarray	Culture of HL-60 cells treated with IC ₅₀ concentrations of benzene, hydroquinone and benzoquinone	Culture of HL-60 cells treated with Dimethyl sulfoxide	Alteration in expression of 27 genes (<i>CCL2</i> , <i>EGR1</i> , <i>GCLM</i> , <i>PMAIP1</i> , <i>SESN2</i> , <i>CD69</i> , <i>HERPUD1</i> , <i>HSPA8</i> , <i>RIT1</i> , <i>SERTAD1</i> , <i>SLC38A2</i> , <i>SLC7A11</i> , <i>DNAJB4</i> , <i>ANKFY1</i> , <i>ANLN</i> , <i>AR</i> , <i>ARHGAP19</i> , <i>CDCA2</i> , <i>DEPDC1</i> , <i>ELK1</i> , <i>FBXW9</i> , <i>HERC2</i> , <i>HTR5A</i> , <i>KIF20A</i> , <i>MKI67</i> , <i>MT1G</i> , <i>MT1X</i>).
Gao et al. [48]	cDNAmicroarray	4 people diagnosed with benzene poisoning and 3 people from the same factory exposed but presenting no symptoms	3	Top 14 significant genes with altered expression (<i>PIK3R1</i> , <i>PIK3CG</i> , <i>PIK3R2</i> , <i>GNAI3</i> , <i>SYK</i> , <i>PTPN6</i> , <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> , <i>PLCG2</i> , <i>NFKB1</i> , <i>LYN</i> , <i>SOCS4</i> , <i>HLA-DMA</i> , <i>HLA-DMB</i>).

Table 3 Malathion list of most important studies obtained herein and their selected genes

Reference	Method	Cases	Controls	DEGs
Anjitha et al. [49]	Microarray	Culture of human lymphocytes treated with three concentrations of malathion (50, 100 and 150 µg/mL)	Culture of human lymphocytes treated with DMSO (1%)	57 DEGs (<i>B4GALT1</i> , <i>BMI1</i> , <i>BTG1</i> , <i>CIQBP</i> , <i>CASP4</i> , <i>CBFB</i> , <i>CD14</i> , <i>CD5</i> , <i>CD36</i> , <i>CDK2</i> , <i>CEBPG</i> , <i>COL1A2</i> , <i>DDX11</i> , <i>DUSP1</i> , <i>EPHA4</i> , <i>EPS8L1</i> , <i>FGF6</i> , <i>FGFR1</i> , <i>FOXO4</i> , <i>FSHR</i> , <i>GNAI2</i> , <i>GPS2</i> , <i>GRAMD4</i> , <i>GSTP1</i> , <i>HLA-A</i> , <i>HLA-E</i> , <i>HTATIP2</i> , <i>IL13RA2</i> , <i>IRAK1</i> , <i>LGALS1</i> , <i>LPCAT4</i> , <i>LZTS2</i> , <i>MAP2K3</i> , <i>MICA</i> , <i>NINJ1</i> , <i>NME2</i> , <i>NTRK2</i> , <i>PAX1</i> , <i>PEBP1</i> , <i>PFN1</i> , <i>PHB</i> , <i>PLAU</i> , <i>PML</i> , <i>PRKD1</i> , <i>RAB11FIP3</i> , <i>SHC1</i> , <i>SOCS3</i> , <i>TEK</i> , <i>TFRC</i> , <i>TLR8</i> , <i>TPR</i> , <i>TRIM35</i> , <i>TUSC2</i> , <i>TWIST1</i> , <i>VHL</i> , <i>VPREB3</i> and <i>WT1</i>)

Interaction network

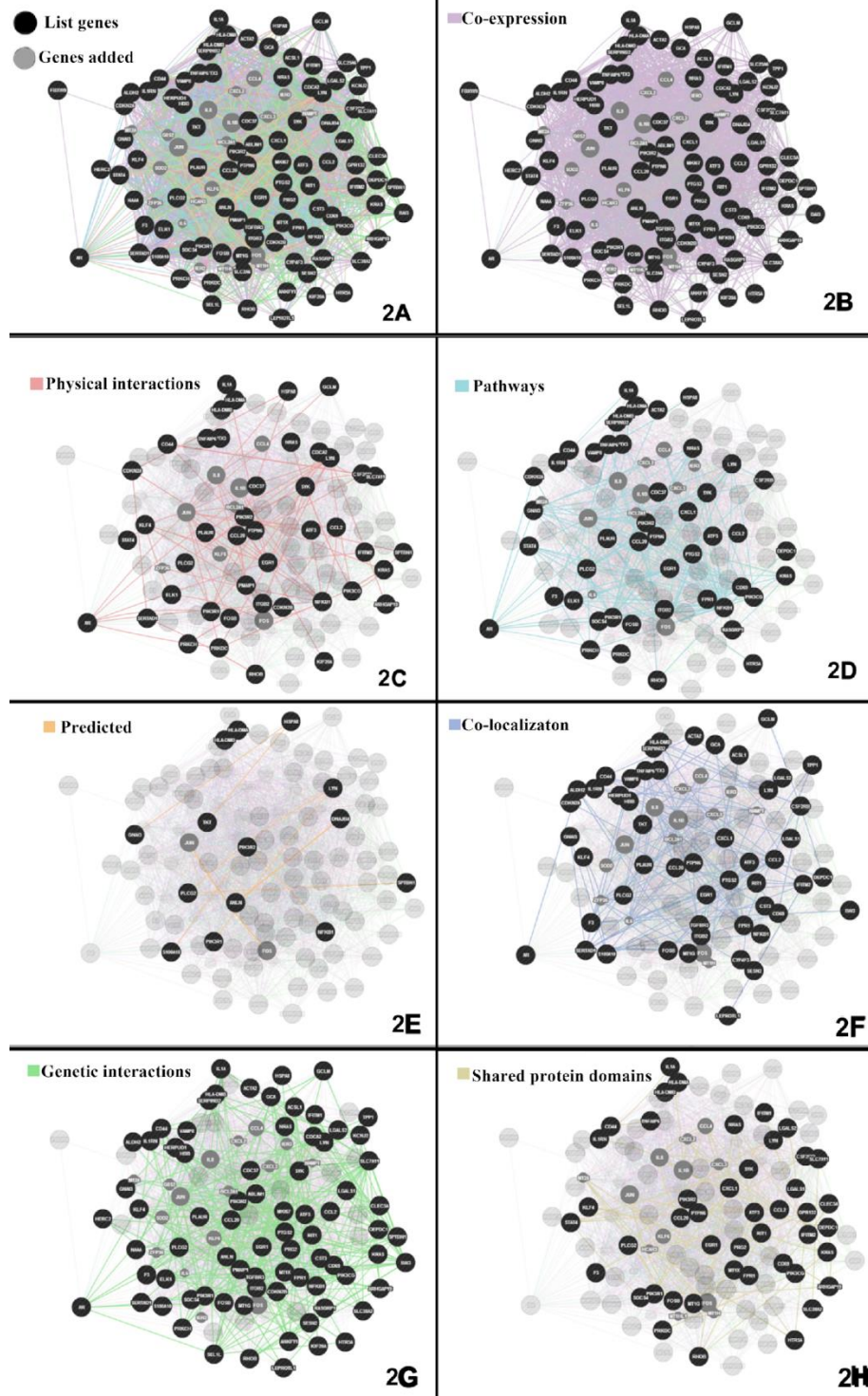
The analysis of biological interactions by GeneMANIA revealed a network comprising 114 genes and 2415 interactions (Fig 1A) and a PPI network comprising 67 nodes and 134 edges by STRING (Fig. 4).

The gene-gene network presented a predominance of co-expression interactions (Fig 1B), followed by physical interactions (Fig 1C), molecular pathways (Fig 1D), predicted (Fig 1E), co-localization (Fig 1F), genetic interactions (Fig 1G) and shared protein domains (Fig 1H), respectively.

Among the advantages observed when using GeneMANIA is the potential to expand the search for related genes, which in this study represented 96 genes obtained from the literature, for a final network comprising 114 genes. Some of the added genes also present alteration in expression on benzene exposure (such as *JUN*, *KLF6*, *KFP36* and *BCL2A1*) [47,50,51]. However, one of the limitations of using this software is its inability to identify gene synonyms, as GeneMANIA did not identify *TRA@*, *AD022* and its synonyms as valid names, as well as p15, although the official name *CDKN2B* was identified. In addition to its ability to detect and compensate for data redundancy, the

GeneMANIA Prediction Server also displays an advantage due to the predictive accuracy and propagation of its algorithm [52,53].

Fig 1 Benzene biological interaction network.

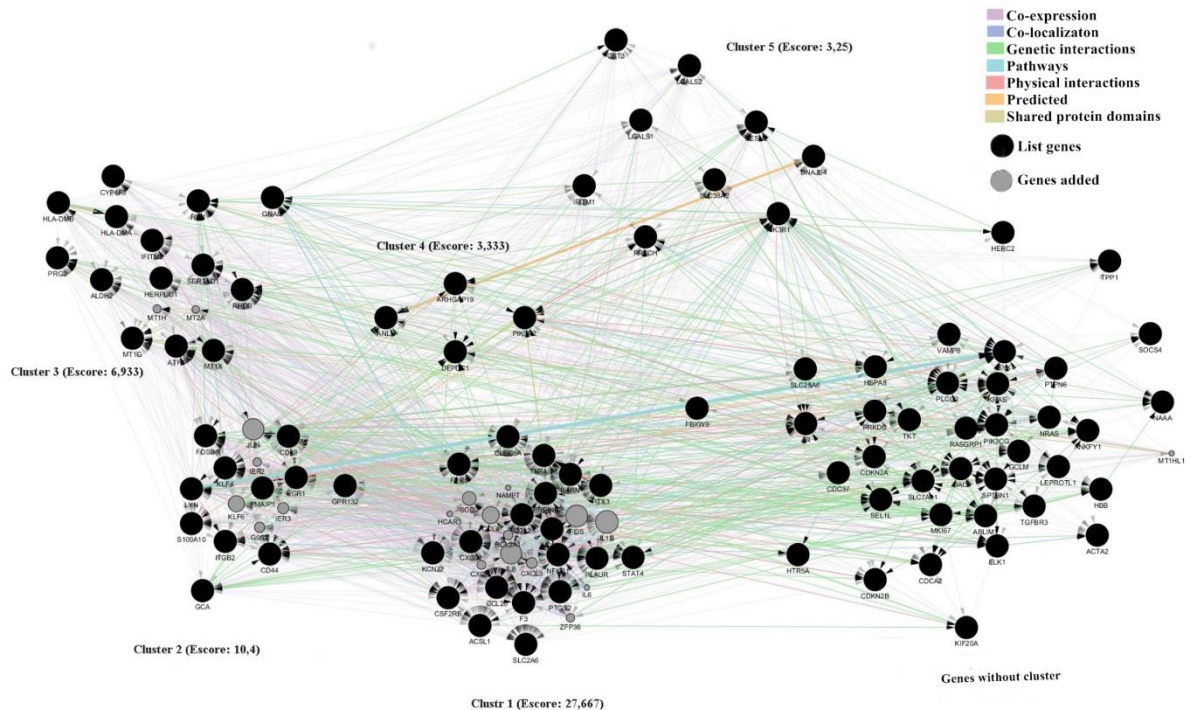


(1A) Interaction network generated using GeneMania with 114 genes comprising 2415 interactions. (1B) Co-expression interactions (1C) Physical interactions. (1D) Pathways. (1E) Predicted. (1F) Co-localization. (1G) Genetic interactions and (1H) Shared protein domains.

Cluster Analysis

The MCODE software classified and separated molecular aggregates into clusters. The cluster analysis identified five sub-networks (Fig3), ranked based on node connectivity level (score).

Fig 2 Overview of the 5 clusters obtained from the benzene gene-gene network using the MCODE software.



Interaction network generated using GeneMANIA with 114 nodes (8 nodes expanded from 96 genes list) and 2415 edges. All nodes are interconnected in network, but 38 nodes is not in any cluster: (a) Cluster 1: score = 27.867, (b) Cluster 2: score = 10.4, (c) Cluster 3: score = 6.933, (d) Cluster 4: score = 3.333 and (e) Cluster 5: score = 3.25. Nodes may represent biological elements, while the edges describe the nature of their relationship (Co-expression; Physical; Pathways; Predicted; Co-localization; Genetic interactions and Shared protein domains).

The first cluster (score: 27.867), with the highest interaction rate/nodes, is still very similar to the initial network (a subnetwork with fewer genes but the same interactions and functions as the initial search network) and includes several of the main biological processes (BPs) and molecular functions (MFs) in relation to the initial network. The top significant GO terms of the enriched BPs include genes involved in chemotaxis, response to stress, response to wounding, inflammatory response, signal transduction, and response to environmental stimulus. The enriched MFs include cytokine receptor binding, cytokine activity, protein binding, chemokine activity, chemokine receptor binding, and receptor

signaling protein activity. Several of these functions and processes are mediated by *IL1A* and *PTGS2*, which play a central role in the characterization of gene expression associated with benzene exposure [44]. *IL1A* exhibits a single nucleotide polymorphism (SNP), which increases the expression of its mRNA and is inversely associated with granulocyte counts in benzene exposed individuals [54], while *PTGS2* overexpression frequently occurs in pre-malignant and malignant neoplasms, including hematological malignancies [55].

Cluster 2 (score: 10.4) differs from the other networks by presenting only two BPs, with statistical significance ($p < 0.05$), in relation to the initial network for behavioral response to stimulus and chemical stimulus, while new BPs were observed in relation to the regulation of protein and peptidyl-tyrosine phosphorylation, release of cytochrome c from mitochondria, regulation of protein modification processes, leading edge cell differentiation, regulation of phosphorylation, hemopoiesis, apoptotic process and hematopoietic or lymphoid organ development. And the MFs of this cluster are related to double-stranded DNA binding, DNA binding, and DNA binding transcription factor activity.

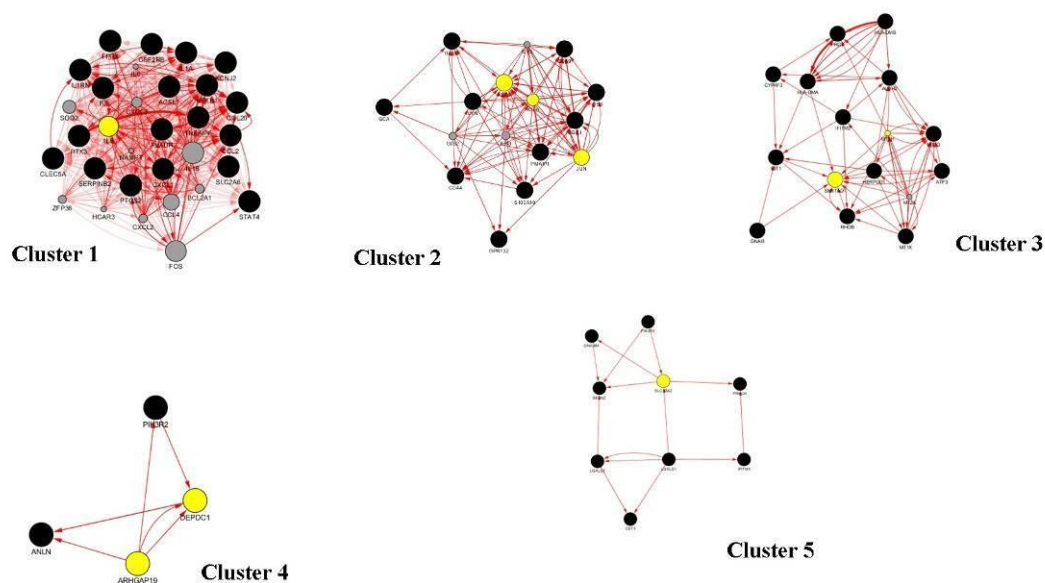
On the other hand, clusters 3 (score: 6.933) and 4 (score: 3.333) presented BPs linked to the septin ring organization, septin ring assembly, septin cytoskeleton organization, and MFs related to the G-protein coupled with serotonin receptor binding, heme binding, fibroblast growth factor antagonist activity, aldehyde dehydrogenase activity [NAD(P)+] activity and kinase regulator activity.

Cluster 5 (score: 3.25) displays both BPs and MFs centered on three genes (*CST3*, *LGALS1*, and *PIK3R1*), with processes related to cellular development and growth, and functions related to enzyme binding.

Centiscape analysis

In order to search for network biomarkers, the structure and manner of information flows (connectivity) along the networks were evaluated (Fig 4 and 5).

Fig 3 Most relevant nodes for the subnetworks predicted by the MCODE analysis in benzene gene-gene network. Centrality calculated by node degree, betweenness and eigenvector.



In order to search for network biomarkers, the structure and manner of information flows (connectivity) along the networks were evaluated (Fig 4 and 5).

In the 1st cluster, *IL8* was identified as the bottleneck node with degree = 34.12903225806452; betweenness = 3.0322580645161286, and eigenvector = 0.1890459130222623.

IL-8 is a chemokine related to the promotion of chemotaxis and neutrophil degranulation. This chemokine activates multiple intracellular signaling pathways and is a significant regulatory factor within tumor microenvironments [56]. Increased *IL-8* expression is present in several cell types in the presence of benzene metabolites [57–59]; Gillis et al. [58] have demonstrated that human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) induce the production of cytokines in the presence of benzene metabolites, such as *IL-8*, at levels from 10 to several thousand-fold, resulting in increased cytokine levels in the medium, while the effects of benzene metabolites on the secretion of soluble cytokines is varied. For example, reductions in *IL-8* production dependent on hydroquinone and catechol concentrations, but not on benzenetriol and benzoquinone, have been observed. This demonstrates the relevance of a network visualization as a whole, and not just the possibility of direct *IL-8* changes, where the major MFs of cluster 1 are related to binding

to the cytokine receptor and cytokine activity. Changes in the molecules that mediate these MFs trigger indirect *IL-8* alterations, which is the nucleus of cluster 1 (the factor that most interacts with other genes in the network). This would, in turn, induce other changes in genes unrelated to these MFs, either concerning the general increase of *IL-8* reported in the literature or the decreased presence of specific metabolites.

In the 2nd cluster, *KLF4*, *KLF6*, and *JUN* were identified as the bottleneck nodes with degree = 12.625, betweenness = 5.25, and eigenvector = 0.23. Krüppel-like factors (KLFs) are highly conserved zinc-finger proteins that regulate cellular transcription machinery and regulate a wide range of cellular functions, including cell proliferation, apoptosis, differentiation, and neoplastic transformation, by binding to GC-rich promoter regions [54,55]. *KLF6* and the proto-oncogene *JUN* are significant in differentiation and cell death, hematopoiesis, and cell survival. Regarding functions, all categories linked to DNA structure and transcription were present (in the case of benzene exposure and identification of possible biomarkers, this becomes important) [47]. Unlike *JUN* gene, which is known to regulate myeloid differentiation [60], *KLF6* gene is a known tumor suppressor for prostate [61], colorectal [62], lung [63], ovary [64], gliomas [65], head and neck [66] and hepatocellular cancer [67]. However, *KLF6* gene inhibits *JUN*-dependent transcription, which leads to an antagonistic effect on cell proliferation induced by *JUN* gene [68]. This demonstrates both the non-specificity of benzene-inducing changes, and the importance of a biological interaction approach.

In the 3rd cluster, *SERTAD1* and *MT1H* were identified as bottleneck nodes, with degree = 8.25; betweenness = 9.125, and eigenvector = 0.23. *SERTAD1* antagonizes the function of the inhibitor of apoptosis-stimulating protein p53 (iASPP), preventing its entry into the nucleus to interact with p53 in leukemic cells when iASPP is in its overproduction stage [69]. Evidence associating increased *SERTAD1* expression in the presence of benzene and its metabolite benzoquinone has been reported in the literature [47].

The 4th and 5th clusters are poorly interconnected, with central nodes in *DEPDC1* and *ARHGAP19* (degree = 3.0; betweenness = 0.5, and eigenvector = 0.49) and *SLC38A2* (degree = 3.1; betweenness = 6.6, and eigenvector = 0.5), respectively.

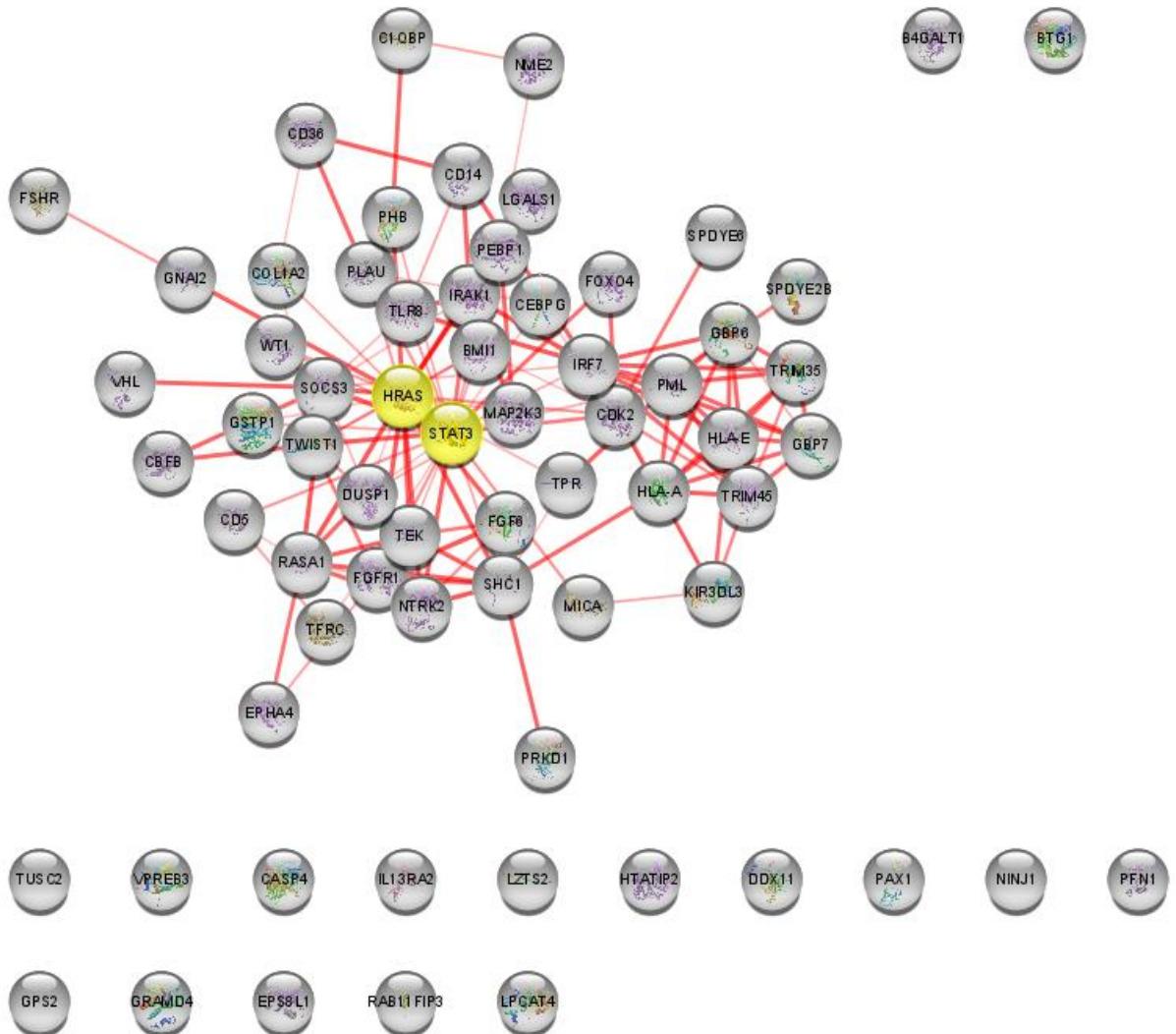
In the PPI network, *HRAS* and *STAT3* was identified as the bottleneck node with a degree = 5.52, betweenness = 52.95, eigenvector = 0.28.

The *HRAS* protein is a small GTPase that cycles between inactive and active conformations. In the active state, *HRAS* binds to GTP and possesses an intrinsic enzymatic activity that cleaves the terminal phosphate of this nucleotide converting it to

GDP. Upon conversion of GTP to GDP, HRAS is turned inactive [70]. And STAT3 is a member of a family of cytoplasmic proteins which participate in cellular responses to cytokines and growth factors as transcription factors. Signal transducers and activators of transcription (STATs) are transcription factors which transmit signals from the extracellular surface of cells to the nucleus. STAT3 is phosphorylated and activated in response to interleukin-6, contributing to an increased expression of genes activated in the liver during acute phase response to inflammation [71].

Dysregulation of HRAS and STAT3 pathways is frequently observed in several cancers [72–74]. Altered HRAS protein is permanently activated within the cell. This overactive protein directs the cell to grow and divide in the absence of outside signals, leading to uncontrolled cell division and the formation of a tumor [2]. STAT3 regulates basic biological processes essential to tumorigenesis, including cell-cycle progression, apoptosis, tumor angiogenesis, invasion and metastasis, and tumor-cell evasion of the immune system [75].

Fig 4 Most relevant nodes for Malathion PPI network analysis in STRING. Centrality calculated by node degree, betweenness and eigenvector.



Interaction network generated using STRING with 67 nodes (10 nodes expanded from 57 genes list) and 134 edges. 50 nodes are interconnected in network and 17 nodes is isolated from network

STRING and GeneMANIA are two well-known web tools which can output a list of associated genes of a query gene based on diverse biological associations.

These two tools provide the same service for four biological associations (physical interaction, genetic interaction, co-expression and co-citation), but other associations are unique for a particular tool. STRING, for example, has three unique biological associations (gene fusion evidence, co-occurrence, and pathway evidence), as well as GeneMANIA (co-inheritance, colocalization, and shared protein domains).

STRING provides a limited variety of association network data to be used for a given query. In contrast, GeneMANIA generates customized results for the consulted genes and the data sources selected by the user. However, GeneMANIA needs an extensive literature to filter the results (e.g., the co-expression data, which is a database of cancer genomes) while STRING may be more suitable for cases where not so many data are available. This is precisely why STRING was adopted for malathion DEGs, since not many data exist for humans (according to IARC classification [8], malathion is considered 2A – “probably carcinogenic to humans”).

Therefore, to approach the complex diseases study, a useful clue is provided by the fact that genes, gene products, and small molecules interact with each other to form a complex interaction network. Thus, an alteration in one gene is propagated through interactions, possibly affecting other genes in the network. And the fact that one can observe similar disease phenotypes despite different genetic causes suggests that these different causes are not unrelated, but rather dysregulate, to the same component of the cellular system [1].

Therefore, complex diseases studies, researchers are increasingly focusing on related/interconnected groups of genes, called modules or subnetworks.

GO Overrepresentation Analysis (BiNGO)

GO analysis and pathway enrichment provided further insights about Biological Processes related to Benzene and Malathion networks. The interrelation between pathways and genes can be observed as the most frequency pathways represent more general processes and less frequency pathways represent more specific gene processes. GO enrichment analysis of the up-frequency DEGs in Benzene network ($p_{\text{adjust}} < 0.05$), were “biological regulation”, “regulation of biological process”, “regulation of cellular process”, down-frequency DEGs “positive regulation of nitric oxide biosynthetic process”, “regulation of vascular endothelial growth factor production”, “leukocyte migration”, “leukocyte chemotaxis”, “cell chemotaxis” and the most significant terms were “response to chemical stimulus”, indicate that the regulation of factors related to cellular locomotion, mainly leukocytes, play a central role on the relationship between benzene and the development of leukemia (Fig. 5).

GO enrichment analysis of the up-frequency DEGs in Malathion network were “regulation of cellular process”, “regulation of biological process”, “biological regulation”, down-frequency DEGs “negative regulation of apoptosis”, “negative regulation of cell death”, “negative regulation of programmed cell death”, “transmembrane receptor protein

tyrosine kinase signaling pathway” and the most significant terms were “positive regulation of biological process” indicating relations more general biological functions and cell death regulation (Fig. 6).

Fig 5 Benzene Biological Processes Overrepresentation Analysis (BiNGO).

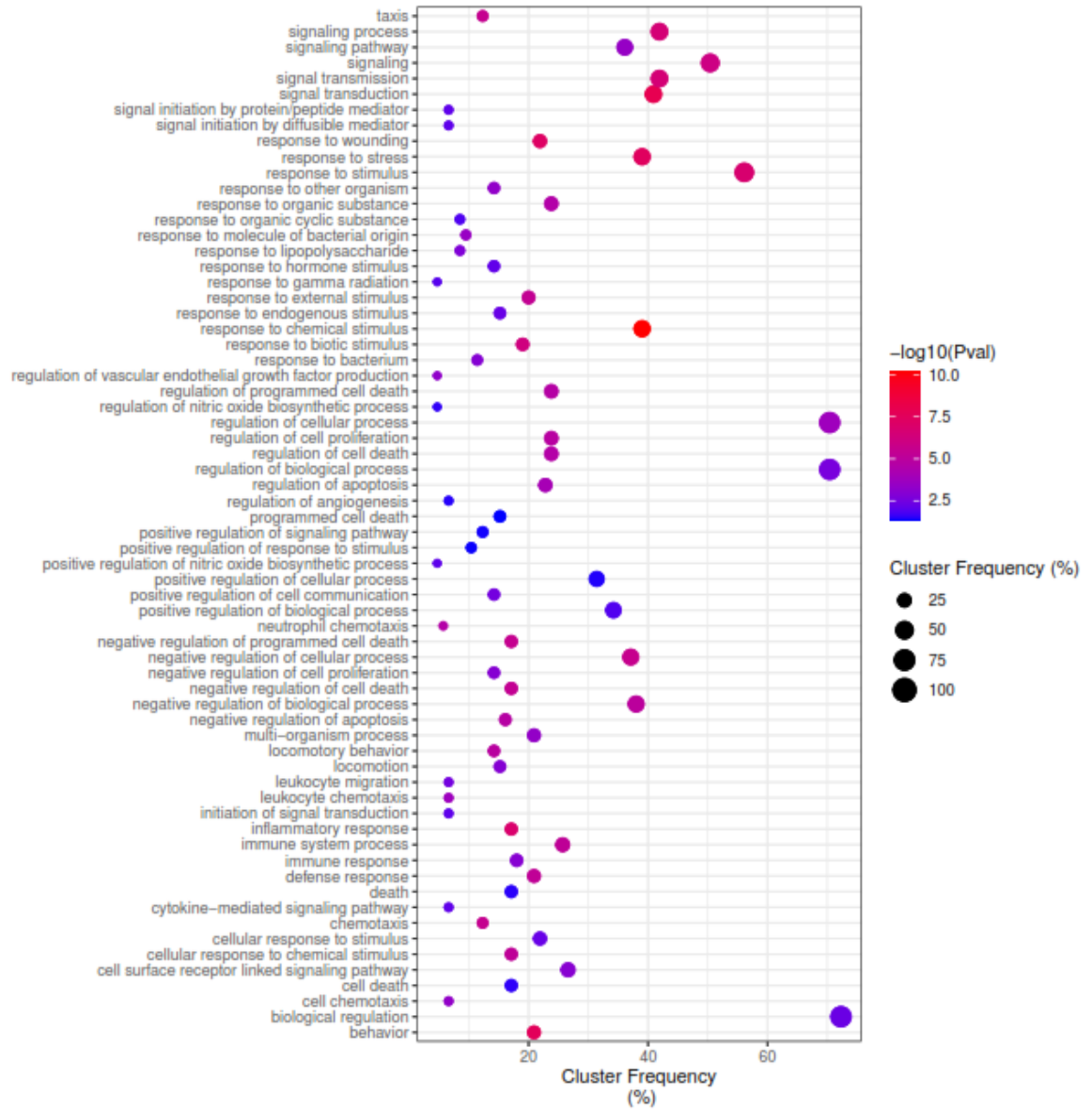
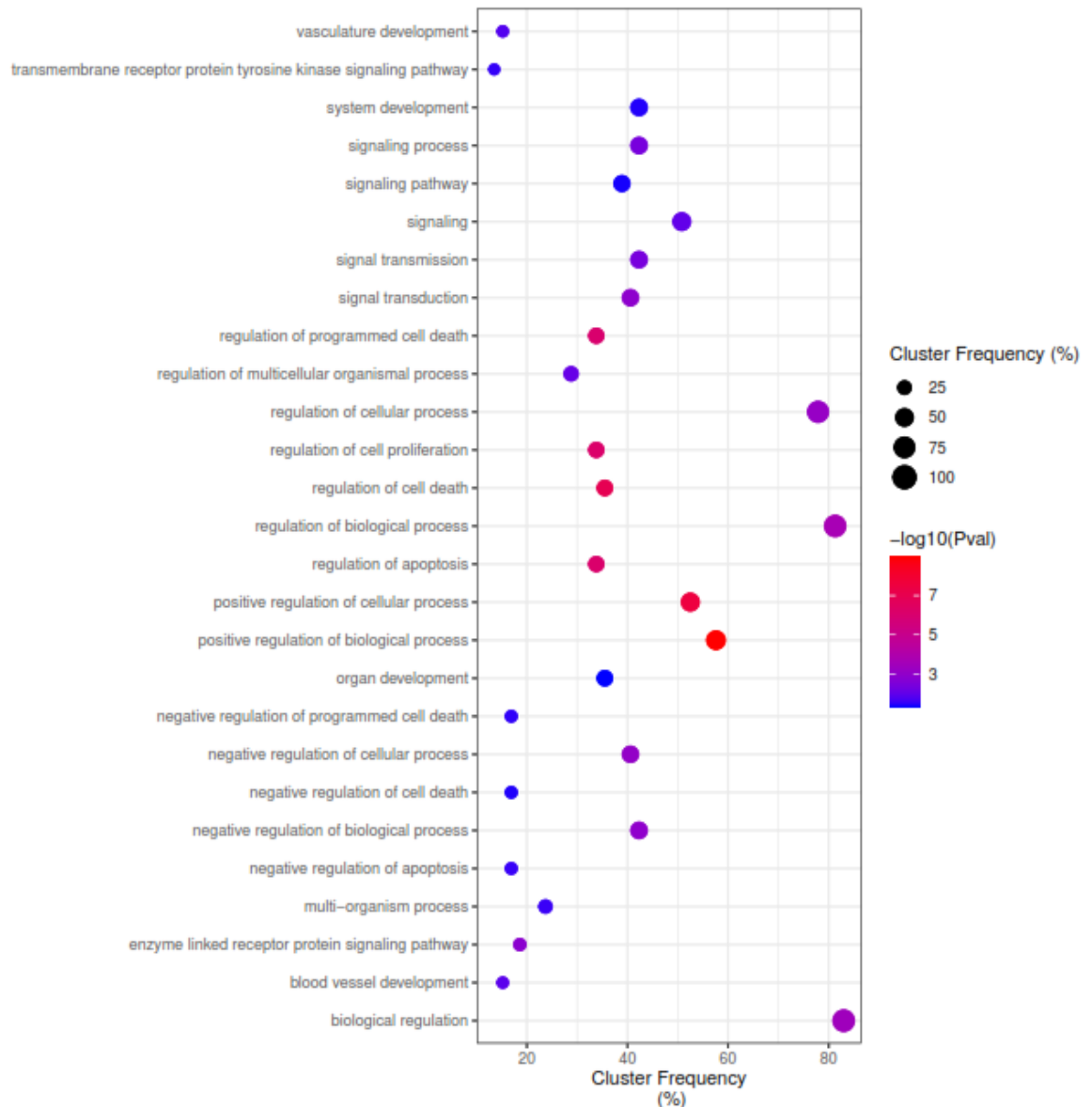


Fig 6 Malathion Biological Processes Overrepresentation Analysis (BiNGO).



CONCLUSION

Complex diseases, especially cancer, are extremely harmful to human health. Therefore, the identification of biomarkers is key to deal with complex disease studies. Pathway analysis, combined with multiple types of high-throughput data, reflects the biological processes more clearly and comprehensively than analyses involving assessment of individual genes. For this reason, pathway-based complex disease analysis approaches have become a hot research topic.

In this study, we begin with the systematic analysis of associated genes using text mining, followed by the identification of essential genes and pathways by functional annotation. We emphasize central roles performed by several important hub genes, such as pro-

teins from the *IL8*, *KLF*, *JUN*, and *SERTAD1* families obtained by exposure to benzene, while *HRAS* and *STAT3* are hubs for exposure to malathion.

Although the network results corroborate with the literature about hub genes plausibility as potential biomarkers, additional validation studies are required to confirm this hypothesis. Given that systems biology approaches for predicting and characterizing hubs genes are recent [76–79], the way in which data collection and network creation are conducted can vary according to the purpose of the study.

REFERENCES

1. Zhang Q, Li J, Xue H, Kong L, Wang Y. Network-based methods for identifying critical pathways of complex diseases: a survey. *Mol Biosyst.* 2016;12(4):1082–1089.
2. Wu XY, Liu WT, Wu ZF, Chen C, Liu JY, Wu GN, et al. Identification of HRAS as cancer-promoting gene in gastric carcinoma cell aggressiveness. *Am J Cancer Res.* 2016;6(9):1935–1948.
3. Chen L, Wang R-S, Zhang X. *Biomolecular networks: methods and applications in systems biology.* Hoboken, NJ: Wiley; 2009. 387.
4. Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J. Network medicine: a network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet.* 2011; 12: 56–68.
5. Cowen L, Ideker T, Raphael BJ, Sharan R. Network propagation: a universal amplifier of genetic associations. *Nat Rev Genet.* 2017;18(9):551–562.
6. Stuart JM. A Gene-Coexpression Network for Global Discovery of Conserved Genetic Modules. *Science.* 2003;302: 249–255.
7. Zhang LV, King OD, Wong SL, Goldberg DS, Tong AHY, Lesage G, et al. Motifs, themes and thematic maps of an integrated *Saccharomyces cerevisiae* interaction network. *J Biol.* 2005;4: 6.
8. Giaever G, Shoemaker DD, Jones TW, Liang H, Winzeler EA, Astromoff A, et al. Genomic profiling of drug sensitivities via induced haploinsufficiency. *Nat Genet.* 1999;21: 278–283.
9. Uetz P, Giot L, Cagney G, Mansfield TA, Judson RS, Knight JR, et al. A comprehensive analysis of protein-protein interactions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature.* 2000;403: 623–627.
10. von Mering C, Krause R, Snel B, Cornell M, Oliver SG, Fields S, et al. Comparative assessment of large-scale data sets of protein-protein interactions. *Nature.* 2002;417: 399–403.
11. Polacco BJ, Babbitt PC. Automated discovery of 3D motifs for protein function annotation. *Bioinformatics.* 2006;22: 723–730.
12. Pellegrini M, Marcotte EM, Thompson MJ, Eisenberg D, Yeates TO. Assigning protein

functions by comparative genome analysis: Protein phylogenetic profiles. *Proc Natl Acad Sci.* 1999;96: 4285–4288.

13. Hegyi H, Gerstein M. The relationship between protein structure and function: a comprehensive survey with application to the yeast genome. *J Mol Biol.* 1999;288: 147–164.

14. Akavia UD, Litvin O, Kim J, Sanchez-Garcia F, Kotliar D, Causton HC, et al. An Integrated Approach to Uncover Drivers of Cancer. *Cell.* dezembro de 2010;143(6):1005–1017.

15. Zhang L, McHale CM, Rothman N, Li G, Ji Z, Vermeulen R, et al. Systems biology of human benzene exposure. *Chem Biol Interact.* 2010;184: 86–93.

16. International Agency for Research on Cancer (IARC). *Chemical Agents and Related Occupations.* Lyon, France; 2012.

17. Irons RD, Chen Y, Wang X, Ryder J, Kerzic PJ. Acute myeloid leukemia following exposure to benzene more closely resembles de novo than therapy related-disease. *Genes Chromosomes Cancer.* 2013;52: 887–894.

18. Lagorio S, Ferrante D, Ranucci A, Negri S, Sacco P, Rondelli R, et al. Exposure to benzene and childhood leukaemia: a pilot case-control study. *BMJ Open.* 2013;3: 1–11.

19. Li G, Yin S. Progress of epidemiological and molecular epidemiological studies on benzene in China. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1076: 800–809.

20. Snyder R. Leukemia and Benzene. *Int J Environ Res Public Health.* 2012;9: 2875–2893.

21. Fonseca ASA, Costa DF, Dapper V, Machado JMH, Valente D, Carvalho LVB de, et al. Classificação clínico-laboratorial para manejo clínico de trabalhadores expostos ao benzeno em postos de revenda de combustíveis. *Rev Bras Saúde Ocupacional.* 2017;42.

22. Glass DC, Gray CN, Jolley DJ, Gibbons C, Sim MR, Fritschi L, et al. Leukemia risk associated with low-level benzene exposure. *Epidemiol Camb Mass.* 2003;14: 569–577.

23. Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, et al. Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science.* 2004;306: 1774–1776.

24. Pesatori AC, Garte S, Popov T, Georgieva T, Panev T, Bonzini M, et al. Early effects of low benzene exposure on blood cell counts in Bulgarian petrochemical workers. *Med Lav.* 2009;100: 83–90.

25. Swaen GMH, van Amelsvoort L, Twisk JJ, Verstraeten E, Slootweg R, Collins JJ, et al. Low level occupational benzene exposure and hematological parameters. *Chem Biol Interact.* 2010;184: 94–100.

26. Smith MT. Advances in understanding benzene health effects and susceptibility. *Annu Rev Public Health.* 2010;31: 133-148.

27. Costa-Amaral IC, Carvalho LVB de, Pimentel JN da S, Pereira AC, Vieira JA, Castro VS de, et al. Avaliação ambiental de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos) e biomarcadores de genotoxicidade em trabalhadores de postos de combustíveis. *Rev Bras*

Saúde Ocupacional. 2017;42.

28. Valente D, Costa-Amaral IC, Carvalho LVB de, Santos MVC, Castro VS de, Rodrigues D del RF, et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. Rev Bras Saúde Ocupacional. 2017;42.

29. McHale CM, Zhang L, Smith MT. Current understanding of the mechanism of benzene-induced leukemia in humans: implications for risk assessment. Carcinogenesis. 2012;33: 240–252.

30. Moore PD, Yedjou CG, Tchounwou PB. Malathion-Induced Oxidative Stress, Cytotoxicity, and Genotoxicity in Human Liver Carcinoma (HepG2) Cells. Environ Toxicol 2010; 25:221-226.

31. Navarrete-Meneses MP, Pedraza-Meléndez AI, Salas-Labadía C, Moreno-Lorenzana D, Pérez-Vera P. Low concentrations of permethrin and malathion induce numerical and structural abnormalities in KMT2A and IGH genes in vitro: Permethrin and malathion induce abnormalities in KMT2A and IGH genes. J Appl Toxicol. 2018;38(9):1262–70.

32. Cabello G, Valenzuela M, Vilaxa A, Durán V, Rudolph I, Hrepic N, Calaf G. A Rat Mammary Tumor Model Induced by the Organophosphorous Pesticides Parathion and Malathion, Possibly through Acetylcholinesterase Inhibition. Environ Health Perspect 2001; 109(5):471-479.

33. Bonner MR, Coble J, Blair A, Freeman LEB, Hoppin JA, Sandler DP, Alavanja MCR. Malathion exposure and the incidence of cancer in the Agricultural Health Study. Am J Epidemiol 2007; 166(9):1023-1103.

34. Lerro, Koutros S, Andreotti G, Friesen MC, Alavanja MC, Blair A, Hoppin JA, Sandler DP, Lubin JH, Ma X, Zhang Y, Freeman LEB. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. Occup Environ Med 2015; 72:736-744.

35. Reuber MD. Carcinogenicity and toxicity of malathion and malaaxon. Environmental Research. junho de 1985;37(1):119–153.

36. Smith MT, Zhang L, McHale CM, Skibola CF, Rappaport SM. Benzene, the exposome and future investigations of leukemia etiology. Chem Biol Interact. 2011;192: 155–159.

37. Roy S, Bhattacharyya DK, Kalita JK. Reconstruction of gene co-expression network from microarray data using local expression patterns. BMC Bioinformatics. 2014;15: S10.

38. Montojo J, Zuberi K, Rodriguez H, Kazi F, Wright G, Donaldson SL, et al. GeneMANIA Cytoscape plugin: fast gene function predictions on the desktop. Bioinformatics. 2010;26: 2927–2928.

39. Scardoni G, Petterlini M, Laudanna C. Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics. 2009;25: 2857–2859.

40. Azevedo H, Bando SY, Bertonha FB, Moreira-Filho CA. Redes de interação gênica e controle epigenético na transição saúde-doença. Rev Med. 2015;94: 223.

41. Newman MEJ. A measure of betweenness centrality based on random walks. *Soc Netw.* 2005;27: 39–54.
42. Yu H, Kim PM, Sprecher E, Trifonov V, Gerstein M. The Importance of Bottlenecks in Protein Networks: Correlation with Gene Essentiality and Expression Dynamics. *PLoS Comput Biol.* 2007;20;3(4):e59.
43. Vilela M, Chou I-C, Vinga S, Vasconcelos A, Voit EO, Almeida JS. Parameter optimization in S-system models. *BMC Syst Biol.* 2008;2: 35.
44. McHale CM, Zhang L, Lan Q, Vermeulen R, Li G, Hubbard AE, et al. Global Gene Expression Profiling of a Population Exposed to a Range of Benzene Levels. *Environ Health Perspect.* 2010;119: 628–634.
45. Bi Y, Li Y, Kong M, Xiao X, Zhao Z, He X, et al. Gene expression in benzene-exposed workers by microarray analysis of peripheral mononuclear blood cells: Induction and silencing of CYP4F3A and regulation of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in DNA double strand break repair. *Chem Biol Interact.* 2010;184: 207–211.
46. Xing C, Wang Q, Li B, Tian H, Ni Y, Yin S, et al. Methylation and expression analysis of tumor suppressor genes p15 and p16 in benzene poisoning. *Chem Biol Interact.* 2010;184: 306–309.
47. Sarma SN, Kim Y-J, Ryu J-C. Differential gene expression profiles of human leukemia cell lines exposed to benzene and its metabolites. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2011;32: 285–295.
48. Gao A, Yang J, Yang G, Niu P, Tian L. Differential gene expression profiling analysis in workers occupationally exposed to benzene. *Sci Total Environ.* 2014;472: 872–879.
49. Anjitha R, Antony A, Shilpa O, Anupama KP, Mallikarjunaiah S, Gurushankara HP. Malathion induced cancer-linked gene expression in human lymphocytes. *Environmental Research.* 2020;182:109 -131.
50. Bader GD, Hogue CWV. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics.* 2003;4: 2.
51. McHale CM, Zhang L, Lan Q, Li G, Hubbard AE, Forrest MS, et al. Changes in the peripheral blood transcriptome associated with occupational benzene exposure identified by cross-comparison on two microarray platforms. *Genomics.* 2009;93: 343–349.
52. Mostafavi S, Ray D, Warde-Farley D, Grouios C, Morris Q. GeneMANIA: a real-time multiple association network integration algorithm for predicting gene function. *Genome Biol.* 2008;9: S4.
53. Peña-Castillo L, Tasan M, Myers CL, Lee H, Joshi T, Zhang C, et al. A critical assessment of *Mus musculus* gene function prediction using integrated genomic evidence. *Genome Biol.* 2008;9: S2.
54. Lan Q. Polymorphisms in Cytokine and Cellular Adhesion Molecule Genes and Susceptibility to Hematotoxicity among Workers Exposed to Benzene. *Cancer Res.* 2005;65: 9574–9581.

55. Bernard M, Bancos S, Sime P, Phipps R. Targeting Cyclooxygenase-2 in Hematological Malignancies: Rationale and Promise. *Curr Pharm Des.* 2008;14: 2051–2060.
56. Waugh DJJ, Wilson C. The Interleukin-8 Pathway in Cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14: 6735–6741.
57. Bironaite D, Siegel D, Moran JL, Weksler BB, Ross D. Stimulation of endothelial IL-8 (eIL-8) production and apoptosis by phenolic metabolites of benzene in HL-60 cells and human bone marrow endothelial cells. *Chem Biol Interact.* 2004;149: 177–188.
58. Gillis B, Gavin IM, Arbieva Z, King ST, Jayaraman S, Prabhakar BS. Identification of human cell responses to benzene and benzene metabolites. *Genomics.* 2007;90: 324–333.
59. Moro AM, Charão MF, Brucker N, Durgante J, Baierle M, Bubols G, et al. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen.* 2013;754: 63–70.
60. Lord KA, Abdollahi A, Hoffman-Liebermann B, Liebermann DA. Proto-oncogenes of the fos/jun family of transcription factors are positive regulators of myeloid differentiation. *Mol Cell Biol.* 1993;13: 841–851.
61. Narla G. KLF6, a Candidate Tumor Suppressor Gene Mutated in Prostate Cancer. *Science.* 2001;294: 2563–2566.
62. Mukai S. Involvement of Krüppel-like factor 6 (KLF6) mutation in the development of nonpolypoid colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2007;13: 3932.
63. Ito G, Uchiyama M, Kondo M, Mori S, Usami N, Maeda O, et al. Kruppel-Like Factor 6 Is Frequently Down-Regulated and Induces Apoptosis in Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *Cancer Res.* 2004;64: 3838–3843.
64. DiFeo A. Roles of KLF6 and KLF6-SV1 in Ovarian Cancer Progression and Intraperitoneal Dissemination. *Clin Cancer Res.* 2006;12: 3730–3739.
65. Camacho-Vanegas O, Narla G, Teixeira MS, DiFeo A, Misra A, Singh G, et al. Functional inactivation of the KLF6 tumor suppressor gene by loss of heterozygosity and increased alternative splicing in glioblastoma. *Int J Cancer.* 2007;121: 1390–1395.
66. Teixeira MS, Camacho-Vanegas O, Fernandez Y, Narla G, DiFeo A, Lee B, et al. KLF6 allelic loss is associated with tumor recurrence and markedly decreased survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2007;121: 1976–1983.
67. Song J, Kim CJ, Cho YG, Kim SY, Nam SW, Lee SH, et al. Genetic and epigenetic alterations of the KLF6 gene in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21: 1286–1289.
68. Slavin DA, Koritschoner NP, Prieto CC, López-Díaz FJ, Chatton B, Bocco JL. A new role for the Krüppel-like transcription factor KLF6 as an inhibitor of c-Jun proto-oncoprotein function. *Oncogene.* 2004;23: 8196–8205.
69. Qiu S, Liu S, Yu T, Yu J, Wang M, Rao Q, et al. Sertad1 antagonizes iASPP function by hindering its entrance into nuclei to interact with P53 in leukemic cells. *BMC Cancer.*

2017;17.

70. Kompier LC, Lurkin I, van der Aa MNM, van Rhijn BWG, van der Kwast TH, Zwarthoff EC. FGFR3, HRAS, KRAS, NRAS and PIK3CA mutations in bladder cancer and their potential as biomarkers for surveillance and therapy. *PloS One*. 2010;5(11):e13821.

71. Raz R, Durbin JE, Levy DE. Acute phase response factor and additional members of the interferon-stimulated gene factor 3 family integrate diverse signals from cytokines, interferons, and growth factors. *J Biol Chem*. 1994;269(39):24391–24395.

72. van Engen-van Grunsven ACH, van Dijk MCRF, Ruiter DJ, Klaasen A, Mooi WJ, Blokx WAM. HRAS-mutated Spitz Tumors: A Subtype of Spitz Tumors With Distinct Features. *Am J Surg Pathol*. 2010;34(10):1436–1441.

73. Fernandez-Medarde A, Santos E. Ras in Cancer and Developmental Diseases. *Genes Cancer*. 2011;2(3):344–58.

74. Haura EB, Turkson J, Jove R. Mechanisms of Disease: insights into the emerging role of signal transducers and activators of transcription in cancer. *Nat Clin Pract Oncol*. 2005;2(6):315–324.

75. Yu H, Jove R. The STATs of cancer — new molecular targets come of age. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(2):97–105.

76. Brahma R, Gurumayum S, Naorem LD, Muthaiyan M, Gopal J, Venkatesan A. Identification of Hub Genes and Pathways in Zika Virus Infection Using RNA-Seq Data: A Network-Based Computational Approach. *Viral Immunol*. 2018;31: 321–332.

77. Guttula PK, Agarwal A, Maharana U, Gupta MK. Prediction of novel pluripotent proteins involved in reprogramming of male Germline stem cells (GSCs) into multipotent adult Germline stem cells (maGSCs) by network analysis. *Comput Biol Chem*. 2018;76: 302–309.

78. He F, Ai B, Tian L. Identification of genes and pathways in esophageal adenocarcinoma using bioinformatics analysis. *Biomed Rep*. 2018; 9(4): 305–312.

79. Lu Y, Li A, Lai X, Jiang J, Zhang L, Zhong Z, et al. Identification of differentially expressed genes and signaling pathways using bioinformatics in interstitial lung disease due to tyrosine kinase inhibitors targeting the epidermal growth factor receptor. *Invest New Drugs*. 2019; 37: 384–400.

6.2 ARTIGO 2

IMPACTO DOS FATORES SOCIODEMOGRÁFICOS E OCUPACIONAIS
ASSOCIADOS A QUALIDADE DO SONO EM GUARDAS DE ENDEMIAS DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

RESUMO

INTRODUÇÃO. As condições do processo de trabalho dos Agentes de Combate às Endemias (ACE) expõem esses trabalhadores a diversos fatores de risco. A exposição ocupacional aos pesticidas aumenta os efeitos para a saúde, que repercutem também nos distúrbios do sono. **OBJETIVO:** Apresentar os fatores sociodemográficos e ocupacionais associados a qualidade do sono e a prevalência de doenças autorreferidas pelos ACE. **MÉTODOS:** Estudo de delineamento transversal com 515 ACE, do Estado do Rio de Janeiro. Foram coletados dados sobre características sociodemográficas e ocupacionais. Os dados da história ocupacional e qualidade do sono, avaliada pelo Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI), foram obtidos por meio de questionário autoaplicável. **RESULTADOS:** Homens foram a maioria dos respondentes (74,0%), 73,4% da raça/cor preta e parda, 72,4%, idade média 56 anos (DP=6,1) e máxima de 75 anos. A média de pontuação global do PSQI foi maior que o ponto de corte (6,7). Mulheres apresentaram pior pontuação PSQI (>5), com prevalência de 67,2% entre as mulheres e 54,9% entre os homens ($p=0,009$). Mulheres tiveram médias de escore global (8,12) mais elevada do que homens (6,31), indicando pior qualidade do sono ($p=3,83 \times 10^{-05}$). Eficiência do sono de acordo com média ponderada por grupo ocupacional foi em média melhor para os trabalhadores sem contato com agrotóxicos (87,26%). **DISCUSSÃO:** As trabalhadoras mulheres que executam atividade enquanto ACE apresentaram maiores efeitos à saúde do que homens, tanto no que se refere as doenças crônicas e componentes de alterações do sono. Recomenda-se a implementação de programas de higiene do sono, assim como prevenção e promoção da saúde, bem como o monitoramento das exposições ocupacionais e dos fatores de riscos à saúde.

Palavras-chave: Saúde do Trabalhador. Agente de Combate às Endemias. Agrotóxicos. Qualidade Sono. Estudos Transversais. Efeitos adversos.

ABSTRACT

INTRODUCTION. The conditions of the work process of the Endemic Workers expose these to various risk factors. And when are associated with other occupational exposures, such as pesticides, they increase health effects, which also have repercussions on sleep disorders. **OBJECTIVE.** Present the sociodemographic and occupational factors associated with sleep quality and prevalence of self-reported diseases by ACE. **METHODS.** A cross-sectional study with 515 workers was conducted in State of Rio de Janeiro, Brazil. Data on sociodemographic and occupational characteristics were collected. Data on occupational history and sleep quality, assessed by the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI), were obtained through a self-administered questionnaire. **RESULTS.** Men were most respondents (74.0%), 73.4% of black and brown race/color, mean age 56 years (SD=6.1) and maximum of 75 years. The mean overall PSQI score was higher than the cut-off point (6.7). Women had a worse PSQI score (>5), with a prevalence of 67.2% among women and 54.9% among men (p=0.009). Women had higher mean global scores (8.12) than men (6.31), indicating worse sleep quality in the group of women compared to men (p=3.83x10⁻⁰⁵). Sleep efficiency according to weighted average by occupational group was on average better for workers without contact with pesticides (87.26%). **DISCUSSION.** Female workers who perform activity while ACE had higher health effects than men, both about chronic diseases and components of sleep disorders. It is recommended the implementation of sleep hygiene, and prevention and health promotion programs, as well as the monitoring of occupational exposures and health risk factors.

KEYWORDS. Occupational Health. Pesticides. Sleep Quality. Cross-Sectional Studies. Adverse Effects.

INTRODUÇÃO

No Brasil, os trabalhadores e população em geral estão submetidos, desde 1967, ao uso intensivo de organofosforados utilizados pelos programas de saúde pública brasileiros para o controle vetorial da dengue. Descrita por Augusto e colaboradores (1998) como uma estratégia “perdulária, perigosa e inócua”, por centrar no vetor as ações de controle dessa doença mediante o uso de venenos nocivos para a saúde humana. A estratégia de risco adotada, além de ineficiente na erradicação das epidemias e do mosquito, contribuiu para intensificação do quantitativo de veneno e desencadeou o ciclo resistente aos organofosforados em todo o país. Dessa forma, o país passou da condição epidêmica para endêmica/epidêmica, os casos passaram a ter maior letalidade e as crianças ficaram mais suscetíveis (AUGUSTO *et al.*, 1998).

Além dos efeitos tóxicos agudos baseados na inibição da acetilcolinesterase, que leva ao acúmulo de acetilcolina, a exposição crônica aos organofosforados tem sido abordada como fator causal em uma variedade de doenças humanas que envolvem os sistemas nervoso e imune (BAJGAR, 2013; RAY; RICHARDS, 2001).

Apesar do conhecimento sobre os danos à saúde, o organofosforado mais utilizado no combate aos mosquitos, foi o *malathion* (COLEONE, 2014). Ele é classificado pela IARC no grupo 2A como provavelmente carcinogênico para humanos, possuindo evidências limitadas para linfoma não-Hodgkin e câncer de próstata humana e evidências suficientes em animais e *in vitro* para sua carcinogenicidade, dano ao DNA e cromossômico e alterações hormonais (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2017).

Entre os trabalhadores expostos, destacam-se os agricultores e os trabalhadores de saúde pública, que atuam no controle de vetores de doenças como a dengue, nas empresas desinsetizadoras e desratizadoras, que devido ao processo produtivo tem maior potencial de contaminação. Os casos de intoxicação aguda de aplicadores que atuam nas áreas urbanas são frequentemente registrados pelos CIATs (Centros de Informação e Assistência Toxicológica), em todo o país (LONDRES, 2012). As fases de exposição dos ACE aos inseticidas se dá desde o fracionamento e preparação da calda até sua aplicação nos ambientes de controle vetorial, ou seja, envolvem todas as etapas do processo produtivo, desde o armazenamento, transporte e descarte do produto além da limpeza e manutenção dos equipamentos (BRASIL, 2019).

Tem sido relatados sintomas de intoxicação a agrotóxicos como: - dores de cabeça, fraqueza, mal-estar, dor de estômago, sonolência, perda de peso, fraqueza muscular, depressão, irritabilidade, insônia, anemia, dermatites, alterações hormonais, problemas imunológicos, efeitos na reprodução (infertilidade, malformações congênitas, abortos), doenças hepáticas, respiratórias, neurológicas, podendo muitas vezes ser irreversíveis, incluindo paralisias e vários tipos de câncer (LONDRES, 2012). Um dos sintomas decorrentes da exposição crônica aos agrotóxicos é a restrição aguda e crônica do sono, que afeta o desempenho psicomotor, consolidação da memória, criatividade, riscos na tomada de decisão, redução do desempenho e os riscos de acidentes (DIEKELMANN; BORN, 2010; LI *et al.*, 2019).

Os distúrbios do sono afetam milhões de pessoas em todo o mundo. Quando esses fatores de risco estão associados a outros, como a exposição a pesticidas, aumentam os efeitos para o agravo da saúde. E os trabalhadores do controle de vetores estão sujeitos à exposição crônica e cumulativa pelo uso intensivo de agrotóxicos, alguns deles proibidos ou restritos em outros países estão submetidos aos efeitos à saúde dessa exposição ocupacionais, que também repercutem nos distúrbios do sono, e impactam no desempenho psicomotricidade, memória, criatividade e a tomada de decisões (ALHOLA e POLO-KANTOLA, 2007).

O presente estudo faz parte de um projeto integrado multicêntrico: "*Estudo do Impacto à saúde de Agentes de Combate às Endemias/Guardas de Endemias pela exposição a agrotóxicos no Estado do Rio de Janeiro*", que integra diversas abordagens para avaliar a saúde dos ACE. Este artigo tem objetivo de apresentar os fatores sociodemográficos e ocupacionais associados a qualidade do sono e prevalência de doenças autorreferidas pelos ACE.

MATERIAIS E MÉTODOS

Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa com delineamento transversal direcionada a trabalhadores no período de 2020 a 2022, tendo como população-alvo os ACE do Estado do Rio de Janeiro.

População do estudo

O controle vetorial da dengue, em todo o país, envolve mais de noventa e quatro mil ACE, quando selecionados pela denominação de agentes de endemias, guardas de endemias e mata mosquitos (CADASTRO NACIONAL DE ESTABELECIMENTOS DE SAÚDE, 2020). No Rio de Janeiro, a população de ACE já constituiu uma força de trabalho em torno de 10 mil servidores no Estado. Entretanto, segundo dados do Ministério da Saúde, são 6.200 trabalhadores, devido às aposentadorias e óbitos (CENTRO DE ESTUDOS DA SAÚDE DO TRABALHADOR E ECOLOGIA HUMANA, 2019).

Amostra de Estudo

A amostra foi estimada em 308 indivíduos, assumindo um poder estatístico de 90% e um nível de confiança de 95%, erro $\alpha = 0,05$, para estudo de associações com um risco relativo mínimo de 1,6, dependendo da exposição avaliada.

Dados sociodemográficos e processo de trabalho

Para a coleta dos dados sociodemográficos, das condições de trabalho, histórico de saúde e da qualidade do sono, foi utilizado questionário individual aplicável, componente do projeto integrador, adaptado para uso online em período de pandemia e distanciamento social. O questionário é semiestruturado e seu acesso online na plataforma google forms.

Avaliação dos padrões de sono

A qualidade do sono foi avaliada pelo questionário padronizado do Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI), desenvolvido por Buysse (1989) e validado para o Brasil por Bertolazi (2011).

Essas questões são categorizadas em 7 componentes do PSQI: Componente 1: Qualidade subjetiva do sono: (muito boa=0, boa=1, ruim=2, muito ruim=3); Componente 2: Latência do sono (<ou = 15 minutos=0, 16-30 minutos=1, 31-60 minutos=2, > 60 minutos=3); Componente 3: Duração do sono (>7 horas=0, 6-7 horas=1, 5-<6 horas=2, <5 horas=3); Componente 4: Eficiência habitual do sono: (nº de horas dormidas / nº de horas

no leito} x 100 = eficiência do sono (%)); Componente 5: Distúrbios do sono (nenhuma vez=0, menos de 1 vez/semana=1, 1 a 2 vezes/semana=2, 3 vezes/semana ou mais=3); Componente 6: Uso de medicação para dormir: (nenhuma vez=0, < 1 vez / semana=1, 1 a 2 vezes / semana=2, 3 vezes / semana ou mais=3); Componente 7: Sonolência diurna e distúrbios durante o dia (nenhuma vez=0, <1 vez / semana=1, 1 a 2 vezes / semana=2, 3 vezes / semana ou mais=3).

A pontuação pode variar de 0 a 3 para cada componente, com pontuação global máxima de 0 a 21 pontos. Pontuações de escore global PSQI ≤ 5 indicam boa qualidade sono e PSQI > 5 indicam pior qualidade do sono. Uma pontuação global do PSQI maior que 5 indica grandes dificuldades em pelo menos 2 componentes ou dificuldades moderadas em mais de 3 componentes.

Identificação das Variáveis

Para verificar a associação entre Atividade Atual e Qualidade do sono foram selecionadas variáveis retiradas dos dados disponíveis sobre indicadores de exposição e indicadores individuais.

As informações investigadas sobre o trabalho dos ACE foram:

Indicadores exposição:

Variável exposição principal: Atividade atual

Atividade atual foi definida de acordo com o potencial de exposição presumida em três níveis de exposição: - alto, médio e baixo. Esta definição de classificar os grupos ocupacionais, levou-se em consideração pressupostos utilizados para estimativas de níveis de exposição da *matriz CAREX (Carcinogen Exposure)*, desenvolvida para 139 agentes cancerígenos na União Europeia, cujos cálculos utilizaram dados ou informações sobre os fatores de risco aos quais os trabalhadores estão expostos e que são influenciados, principalmente pelo tipo e local onde o trabalho é realizado (ocupação no ramo produtivo) e avaliação da população exposta, para os quais são categorizados por um no nível *background*, nível baixo e alto de exposição (CONCHA-BARRIENTES, 2004).

Para a classificação dos ACE utilizou-se tercis, baixo, médio e alto, devido à distribuição, conforme atividade atual relatada, por agrupamento: 1=alto: *aplicação e preparo* (compreende atividades de 1 a 05 com trabalhadores que realizam o preparo da mistura e aplicam agrotóxicos, em sua maioria como agente de campo); 2=médio: *manuseio/equipamento/produtos* (incluiu grupo de atividade de 6 a 13, com trabalhadores que

manuseiam equipamentos, transportam recipientes e/ou entram em contato com os agrotóxicos como por exemplo abastecedores, motorista e operadores) e 3=baixo: *sem contato com agrotóxico* (trabalhadores que realizam atividades administrativas, educação e vigilância sem contato com agrotóxicos de 14 a 27 atividades descritas na educação, informação e supervisão de campo). Quadro com a classificação dos agrupamentos de atividades, conforme exposição presumida está disponível em apêndice da tese.

A variável de exposição, foi categorizado em três grupos e posteriormente em variável dicotômica em 2 grupos (1=baixo/médio e 0=alto).

Variável desfecho: Qualidade do Sono

Para definição Qualidade do Sono, variável desfecho, foi aferido o resultado do escore PSQI foi dividida em três categorias para qualidade do sono: ótima= (PSQI ≤ 5), borderline (PSQI 6-7) e má (PSQI > 7), conforme classificação de Lund et al.,2010. Posteriormente foram categorizadas as *dummy* em dois grupos com intervalos PSQI de ≤ 5 e ≥ 6 .

As informações individuais foram:

Covariáveis

Indicadores sociodemográficos:

Para análise descritiva sobre a caracterização da população do estudo calcularam-se as proporções dos seguintes indicadores sociodemográficos: sexo, idade, raça/cor, renda familiar, escolaridade, atividade atual, ano na atividade, tabagismo e o consumo de cigarro por ano. A variável idade foi classificada inicialmente por faixa etária que foram categorizadas em quatro estratos por quartis (≤ 30 , 31-54, 55-73, ≥ 74) de anos.

A informação sobre tabagismo foi avaliada em categorias (nunca fumou, ex-fumante, fumante) e por meio do consumo de maços fumados ao longo dos anos de tabagismo (analisada em três e quatro grupos);

Idade foi quantificada pelo registro em anos, com o qual se avaliou a distribuição normal.

Análises dos dados

Etapa da análise exploratória dos dados

Etapa de análise de dados coletados do questionário eletrônico, compreendeu verificação de consistência e integridade das respostas.

Análise bivariada

Foi realizada análise bivariada para identificar a associação entre a variável

desfecho e as covariáveis. Estimou-se qualidade do sono, de acordo com as variáveis descritoras, analisando-se as diferenças com o Teste do Qui-quadrado de *Person*(χ^2) e de tendência linear com atividades com maior exposição.

Fatores sociodemográficos foram sexo, idade, tabagismo e escolaridade e indicadores econômicos a renda familiar. Fatores ocupacionais foram exposição a agrotóxicos e tempo da exposição em contato com agrotóxicos a atividade atual (variáveis dicotômicas).

Análise estatística

As variáveis quantitativas foram expressas em média \pm DP e as variáveis qualitativas em valores percentuais. Dados referente aos grupos foram descritos por médias e desvios padrão (DP). Uma probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada estatisticamente significativa. Os dados foram analisados pelo aplicativo R versão 3.4.1. E foi utilizado os pacotes: Fruved, ggplot2 e epiDisplay.

RESULTADOS

A população dos ACE que responderam ao questionário digital autoaplicável foram 515 trabalhadores ACE, com vínculo federal e TCLE aceito, do período de agosto de 2020 a agosto de 2022.

Destes respondentes, 74,0% eram do sexo masculino, 73,4% da raça/cor preta e pardo, 72,4% com renda entre 1 e 4 salários-mínimos, 48,0% com primeiro grau de escolaridade, idade média 56 anos (DP=6,1), idade máxima de 75 anos. Trabalhadores com contato direto com agrotóxicos (aplicação e preparo/manuseio de produtos e equipamentos) foram 69,5%, com tempo médio de exposição de 21,2 anos (DP=10,8). Fumantes foram de 12,6% e ex-fumantes 25,4%, enquanto 84,3% consome menos de 1 maço de cigarro/ano (Tabela 1).

A média de pontuação global do PSQI foi maior que o ponto de corte (6,7). Em relação a distribuição segundo sexo, as mulheres apresentaram pior pontuação PSQI (>5), com prevalência de 67,2% entre as mulheres e 54,9% entre os homens ($p=0,009$) (Tabela 1). Os fumantes relataram mais alterações (69,2%) em relação aos não fumantes. O grupo de trabalhadores com consumo tabagístico acima de 183 maços/ano apresentou maior prevalência de alterações do sono (72,5%), estatisticamente significativa ($p=0,046$) (Tabela 1).

As doenças mais prevalentes nesta população foram respectivamente hipertensão, diabetes, doenças do aparelho respiratório e transtornos psíquicos ($P_h=53,40/100$),

$P_d=23,40/100$, $P_{dr}=20,97/100$, $P_{tp}=18,25$) e as alterações clínicas foram hormonais, fígado/rins e tremor essencial ($P_{ho}=13,01/1000$, $P_{fr}=16,50/100$, $P_{te}=11,65/100$). Maiores proporções de má qualidade de sono ($PSQI>5$) ocorrem entre os trabalhadores com transtornos psíquicos (85,1%; $RP=7,3:1$), onde para cada 7 trabalhadores com má qualidade 1 apresentou boa qualidade do sono, alterações imunológicas (83,3%; $RP=5,8:1$), alterações no fígado e rins (74,1%; $RP=3,3:1$) e alterações respiratórias (73,1%; $RP=3,2:1$) (Tabela 2).

A prevalência de doenças crônicas do tipo hipertensão e diabetes por sexo foram respectivamente aproximadas entre as mulheres ($P_h=52,99/100$; $P_d=23,88/100$) e os homens ($P_h=53,54$; $P_d=22,83/100$). Entretanto, quando estima-se as doenças crônicas por idade, observa-se que mulheres com ≥ 56 anos apresentaram prevalência de hipertensão mais elevadas ($P_h=65,63/100$) que os homens ($P_h=56,15/100$), com $RP=1,2$. Queixas de problemas respiratórios também foram maiores em mulheres para idade ≤ 56 . A RP foi de 2,36 casos de problemas respiratórios em mulheres para cada caso ($n=1$) em homens (2,36:1mulheres/homens), 2,50 casos de transtornos psíquicos em mulheres para cada caso ($n=1$) em homens. Maiores diferenças entre o sexo feminino e o masculino foram nas alterações hormonais (3,96:1mulheres/homens). Diferentemente, nos tremores essenciais, onde o sexo masculino foi 2,0 para cada caso em mulheres (2,0:1 homens/mulheres) (Tabela 3).

Em relação a análise da qualidade do sono, o escore global e componentes do sono distribuídos entre sexo evidenciaram que as mulheres tiveram as médias de escores mais elevadas do que os homens, apresentando pontuação média global do $PSQI$ maior (8,12) do que o sexo masculino (6,31), indicando pior qualidade do sono no grupo das mulheres em relação aos homens ($p=3,83 \times 10^{-05}$). Também, obtiveram médias de escores mais elevadas do que os homens para todos os componentes, demonstrando pior qualidade do sono (1,82), duração do sono (1,52), eficiência do sono (1,04), medicamentos para dormir (0,76), sonolência diurna (1,25) e $PSQI$ escore global (8,12) ($p \geq 0,05$). Entretanto, não foi encontrado diferença significativa em relação a latência do sono (Tabela 4).

Eficiência do sono de acordo com média ponderada por grupo ocupacional foi em média melhor para os trabalhadores sem contato com agrotóxicos (87,26%) (Tabela 5).

Tabela 1. Número e proporção de qualidade do sono segundo fatores sociodemográficos em Agente de Combate as Endemias. Rio de Janeiro, 2020 a 2022

Variável	Agentes de Combate as Endemias		Qualidade do Sono (PSQI) n=498	
	n =515	%	≤5	≥ 6
Sexo				p=0,009
Masculino	381	74,0	42,0	54,9
Feminino	134	26,0	29,1	67,2
Idade em quartis				p=0,620
19-30 anos	4	0,8	50,0	25,0
31-54 anos	209	40,6	36,4	60,8
55-73 anos	299	58,1	40,1	56,5
≥ 74 anos	3	0,6	33,3	66,7
Média (DP)	56	6,1		
Raça/cor				p=0,470
Preta	376	73,0	40,2	56,9
Parda	2	0,4	50,0	50,0
Branca	135	26,2	34,1	61,5
Amarela	1	0,2		
Indígena	1	0,2		
Renda Familiar				p=0,661
1 a 4 salários-mínimos	373	72,4	39,1	57,4
4 a ≥ 5 salários-mínimos	142	27,6	37,3	59,9
Escolaridade				p=0,503
III Grau/Pós-Graduação	200	38,8	36,0	60,0
II Grau	68	13,2	33,8	63,2
I Grau	247	48,0	42,1	55,1
Atividade com agrotóxico				p=0,838
Aplicação e preparo	358	69,5	38,0	57,5
Manuseio/equipamento/produtos	24	4,7	45,8	54,2
Sem contato com produto	132	25,6	39,4	59,8
Anos na atividade		p=0,807		
1-15 anos	175	34,0	40,0	58,3
16-35 anos	340	66,0	37,9	57,9
Média (DP)	21,2	10,8		
Tabagismo				p=0,183
Nunca Fumou	319	61,9	39,2	56,7
Fumante	65	12,6	29,2	69,2
Ex-fumante	131	25,4	42,0	55,7
Consumo tabagístico				p=0,046
< 1 maço/ano	434	84,3	40,8	55,5
1 a 182 maço/ano	41	8,0	11	70,7
≥183 maço/ano	40	7,8	11	72,5

p: Valor de p pelo teste de qui-quadrado(χ^2). Variável desfecho PSQI (≤ 5(Boa); ≥ 6 (Ruim))

Teste de tendencia linear

Fonte: Questionário Projeto Guardas de Endemia. Informações autorreferidas.

Tabela 2. Prevalência e proporção de doenças e alterações clínicas em Agente de Combate as Endemias de acordo com qualidade do sono. Rio de Janeiro, 2020 a 2022

Doenças e alterações clínicas	ACE		Prev	Qualidade do Sono (PSQI) n=498				RP
	n	%	(X100)	≤ 5	%	≥ 6	%	
População ACE* (n=515)								
	940	100						
Hipertensão	275	29,3	53,4	97	35,3	171	62,2	1,8
Diabetes	119	12,7	23,11	38	31,9	77	64,7	2,0
Problemas respiratórios	108	11,5	20,97	25	23,1	79	73,1	3,2
Transtornos psíquicos	94	10,0	18,25	11	11,7	80	85,1	7,3
Tremor essencial	60	6,4	11,65	18	30,0	41	68,3	2,3
Alterações fígado/rins	85	9,0	16,5	19	22,4	63	74,1	3,3
Alterações hormonais	67	7,1	13,01	19	28,4	45	67,2	2,4
Alterações imunológicas	42	4,5	8,16	6	14,3	35	83,3	5,8
Alterações cardíacas	17	1,8	3,3	8	47,1	9	52,9	1,1
Alterações gástricas	17	1,8	3,3	8	47,1	8	47,1	1,0
Câncer	13	1,4	2,52	4	30,8	8	61,5	2,0
Leucopenia	4	0,4	0,78	-	-	3	75,0	-
Outros	39	4,1	7,57	12	30,8	25	64,1	2,1

RP=Razão de Proporção

*ACE= Agente de Combate as Endemias

Fonte: Questionário Projeto Guardas de Endemia. Informações autorreferidas.

Tabela 3. Prevalência e Razão de Prevalência de doenças e alterações clínicas, segundo sexo e faixa etária em Agente de Combate as Endemias. Rio de Janeiro, 2020 a 2022

Doenças e alterações clínicas	Mulheres (n=134)					Homens (n=381)					RP (M/H)
	Faixa etária (anos)					Faixa etária (anos)					
	≤55		≥56		Prev total	≤55		≥56		Prev total	
	n	P (X100)	n	P (X100)		P (X100)	n	P (X100)	n		
População ACE(n=515)	70		64			194		187		-	-
Hipertensão	29	41,4	42	65,6	52,99	99	51,0	105	56,1	53,54	0,99
Diabetes	10	14,3	22	34,4	23,88	38	19,6	49	26,2	22,83	1,05
Problemas respiratórios	22	31,4	27	42,2	36,57	32	16,5	27	14,4	15,49	2,36
Transtornos psíquicos	25	35,7	19	29,7	32,84	29	14,9	21	11,2	13,12	2,50
Tremor essencial	3	4,3	6	9,4	6,72	21	10,8	30	16,0	13,39	0,50
Alterações fígado/rins	18	25,7	16	25,0	25,37	25	12,9	26	13,9	13,39	1,89
Alterações hormonais	23	32,9	16	25,0	29,1	13	6,7	15	8,0	7,35	3,96
Alterações imunológicas	10	14,3	8	12,5	13,43	14	7,2	10	5,3	6,3	2,13
Alterações cardíacas	1	1,4	2	3,1	2,24	6	3,1	8	4,3	3,67	0,61
Alterações gástricas	1	1,4	1	1,6	1,49	6	3,1	9	4,8	3,94	0,38
Câncer	5	7,1	4	6,3	6,72	2	1,0	2	1,1	1,05	6,40
Leucopenia	1	1,4	1	1,6	1,49	1	0,5	1	0,5	0,52	2,87
Outros	5	7,1	6	9,4	8,21	14	7,2	14	7,5	7,35	1,12

P=Prevalência

RP=Razão de Prevalência M/H=Mulher/Homens

*ACE= Agente de Combate as Endemias

Fonte: Questionário Projeto Guardas de Endemia. Informações autorreferidas.

Tabela 4. Escore global e componentes do sono distribuídos por sexo, de acordo com Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). Rio de Janeiro, agosto de 2020 a agosto de 2022.

Variáveis	Feminino	Masculino	<i>p</i> -valor
	Média (escore)	Média (escore)	
Qualidade do Sono	1,82	1,51	0,0001
Latência do Sono	1,72	1,55	0,099
Duração do Sono	1,52	1,23	0,006
Eficiência do Sono	1,04	0,73	0,003
Medicamento p/dormir	0,76	0,38	0,001
Sonolência Diurna	1,25	0,87	2,36x10 ⁻⁰⁵
PSQI escore global	8,12	6,31	3,83x10 ⁻⁰⁵

Tabela 5. Eficiência do sono de acordo com média ponderada por grupo ocupacional

Grupo Ocupacional	N	%	Média(%)
Atividade com agrotóxico			
Aplicação e preparo	354	69,55	85,83
Manuseio/equipamento/produtos	24	4,72	83,98
Sem contato com produto	131	25,74	87,26
Total	509	100	

DISCUSSÃO

No Rio de Janeiro, entre 2020 e 2022, 515 ACE foram avaliados de acordo com a percepção de risco, os quais evidenciam que os efeitos à saúde nessa população, que em sua maioria são de homens, negros e pardos, com I grau de instrução, idade média de 56 anos, tempo de trabalho em média de 10 anos, foram as doenças crônicas do tipo: - hipertensão e diabetes. Entre os grupos de doenças e alterações, maiores proporções de má qualidade de sono ocorreram naqueles trabalhadores que apresentaram transtornos psíquicos, alterações imunológicas, alterações no fígado/rins e alterações respiratórias. Quando essas estimativas são analisadas por sexo e idade observa-se que as alterações com má qualidade do sono impactaram diferentemente nas mulheres, que obtiveram os piores escores médios de alterações do sono. Assim como, as maiores prevalências para doenças crônicas (hipertensão, diabetes) quando comparadas entre os grupos de mulheres com idade de 56 anos e mais em relação aos homens na mesma faixa etária, com exceção de tremores essenciais que foi duas vezes mais prevalente em homens do que nas mulheres. Entretanto, essas alterações no sexo feminino, são relevantes, principalmente porque diabetes tem sido relacionada com a restrição do sono (YOUNG *et al.*, 2005) devido aos distúrbios metabólicos, que levam a resistência à insulina.

Além das questões fisiológicas, incluindo a interação entre a redução do ciclo de produção dos hormônios sexuais e qualidade do sono nessa faixa etária, onde concentra mais da metade dos ACE, também as condições de trabalho podem ser fatores contributivos para à insuficiência gonadal. Marteli *et al.* (2021) em estudo sobre os efeitos do trabalho nos sintomas da andropausa e menopausa evidenciaram que os fatores relacionados ao trabalho, como estresse psicológico, esforço físico e distúrbios do sono, mostraram uma correlação significativa com as manifestações da andropausa e sintomas da menopausa quando relacionados com a exposição a agrotóxicos, alta carga de trabalho e trabalho repetitivo.

Em nosso estudo, os ACE do sexo feminino tiveram duas vezes e meio mais chance de desenvolver transtornos psíquicos em relação ao sexo masculino. Nesse grupamento os transtornos, incluindo ansiedade, depressão e medo, configuraram entre as mais importantes manifestações que estão, também, relacionadas as questões de insegurança de direitos trabalhistas, assédio nos ambientes de trabalho e ao tipo de atividade com exposição aos agrotóxicos. Vidal (2021), em outro estudo sobre transtornos mentais nessa população de ACE, durante a pandemia de covid-19, identificou casos de depressão associado ao sexo feminino ($p \leq 0,03$). Entretanto, destaca que as questões pertinentes à

saúde mental já configuravam dentre as demandas dessa categoria, em período anterior a pandemia do coronavírus.

Nessa perspectiva, os informes dos representantes dos trabalhadores já alertavam sobre a instabilidade das relações e condições de trabalho e seus impactos à saúde mental e física. Registraram que os ACE, principalmente o que atuavam há mais de 25 anos na promoção da saúde enfrentavam a precariedade de vínculos e dos direitos trabalhistas desde 2006, onde foram afetados pela instabilidade no exercício da função e o tempo de trabalho, bem como ausência do cargo nas repartições públicas, quando da sua transposição entre as instâncias de gestões públicas. Também, relatam que em muitos períodos ocorreu falta de treinamento, de EPI's adequados, exames toxicológicos e periódicos para avaliação de saúde. Essas condições da organização e processo de trabalho, contribuíram para que esses trabalhadores tivessem maior exposição as doses constantes de produtos químicos nocivos à saúde, decorrente do descaso de seus superiores com as medidas de proteção à saúde e segurança nos ambientes, tendo como consequência o adoecimento e mortes de muitos destes trabalhadores (SINDICATO DOS TRABALHADORES FEDERAIS DA SAÚDE, TRABALHO E PREVIDÊNCIA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 2015; SINDICATO DOS TRABALHADORES NO COMBATE ÀS ENDEMIAS E SAÚDE PREVENTIVA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 2019).

Comumente, o estresse tem sido relacionado como uma das causas de hipertensão arterial, doença prevalente entre os ACE. A hipertensão arterial é um importante fator de risco, responsável por 25 e 40% da etiologia multifatorial da cardiopatia isquêmica e dos acidentes vasculares cerebrais, respectivamente (PASSOS *et al.*, 2006). Por sua multiplicidade de potenciais efeitos coloca a hipertensão arterial na origem das doenças cardiovasculares e, portanto, causas de maior redução da qualidade e expectativa de vida (PASSOS, *et al.*, 2006). Há, também evidências de associação entre duração do sono com pior qualidade e risco cardiometabólico (KNUTSON, 2010). Também, relação entre biomarcadores inflamatórios e doença cardiovascular (GRANDERN *et al.*, 2013), com diferenças entre sexo e/ou raça/etnia, no quais mulheres brancas com restrição do sono apresentaram diminuição da adiponectina (hormônio anti-inflamatório).

A maioria dos ACE desse estudo tem entre 16 e 35 anos de atividades e estão concentrados em atividades de agente de campo, os quais classificamos para fins de análise como atividade de *aplicação e preparo*, portanto, grupo de maior risco para exposição aos agrotóxicos, devido estar em contato direto com as substâncias químicas, quer seja no

preparo ou na aplicação, assim como na manipulação pelo uso de equipamentos para realizar a desinsetização, como a bomba costal dentre outros.

Também, classificamos o grupo manuseio de *equipamento/equipamento e produtos*, integrando todas as atividades que possam ter contato com os agrotóxicos, desde o armazenamento, transporte e atividade de apoio aos agentes de campo, o que coloca estes dois grupamentos em situação de maior risco, sem contudo desconsiderar que mesmo os demais trabalhadores de área administrativas e ou educativas, classificados em *sem contato com agrotóxicos*, possam estar em algum momento expostos aos produtos ou ter uma intoxicação aguda, portanto incluídos em baixa exposição, considerando pelas condições de trabalho e as insuficientes medidas de proteção individual e nos ambientes de trabalho, eles podem de forma pontual se expor a riscos. Em todos os três grupamentos de atividade atual, mais da metade dos trabalhadores referiram má qualidade do sono em relação aos que tiveram boa qualidade do sono. Entretanto, quando se estima a eficiência do sono de acordo com média ponderada por grupo ocupacional verifica-se que em média os trabalhadores sem contato com agrotóxicos, tiveram sua quase totalidade melhor eficácia do sono (87,26%).

Importante destacar, que os fatores de risco presente no ambiente de trabalho da saúde pública têm frequentemente sido denunciados pelos trabalhadores, especialmente sobre as condições de saúde e segurança nos locais de trabalho. Os trabalhadores, geralmente são alocados em Pontos de Apoio (PA), onde, em sua grande maioria, não são locais adequados para proteção da saúde e segurança das suas atividades cotidianas que considerem a possibilidade contaminação química no meio ambiente do trabalho. Segundo relatos dos trabalhadores (LARENTIS, 2022), muitos locais são pequenos, com banheiros desativados e porões e saletas são, muitas vezes, utilizados como estoque para equipamentos e agrotóxicos. Porém nestes espaços pequenos, insalubres e mau higienizados, a ventilação é precária, levando a inalação de gases tóxicos provenientes dos agrotóxicos que ficam armazenados.

Dentre os fatores de riscos que contribuem para exposição aos agrotóxicos no trabalho dos ACE, destacam-se a insuficiência de ações de formação e informação sobre os agravos associados ao uso de agrotóxicos, orientações equivocadas sobre a manipulação dos produtos e ausência de acompanhamento da saúde com impactos diretos na saúde pública e ocupacional (AUGUSTO *et al.*, 2015). Exemplo disso, foi o caso do Temefós, que por falta de informação adequada, os trabalhadores eram induzidos a calcular a diluição da quantidade do veneno pelo tamanho das caixas d'água, com o auxílio de uma tabela, sem

considerar o volume de água. Augusto e colaboradores (1998), observaram que em Pernambuco usavam o dobro da concentração de Temefós, que a utilizada em São Paulo. Comumente, o procedimento era realizado por medidas de colheres/bisnagas, levando em consideração o tamanho físico do reservatório, independentemente do volume de água que no momento estivesse dentro dele. Tal conduta levava ao aumento da concentração do Temefós e do risco de potencial contaminação de pessoas que utilizam esta água “potável”. Nesse estudo, constataram que os agentes de saúde ficavam com as mãos cheias da substância tóxica e, como não foram instruídos a respeito do risco, expuseram-se a esse produto químico sem nenhuma precaução (AUGUSTO *et al.*, 1998).

Limitações desse estudo, referem-se à ausência de medidas de mensurações ambientais e individuais ao longo do processo de trabalho, para monitoramento da magnitude da exposição ocupacional. Além destes, informação autorreferida sobre a atividade de trabalho pode apresentar viés de classificação, uma vez que o registro no questionário é sobre a atividade atual realizada o que pode excluir atividade em contato com os agrotóxicos no passado, assim como a diferença entre atividade real e atividade prescrita.

Nesse estudo exploratório sobre características sociodemográfica e ocupacionais os trabalhadores comunicaram a ocorrência de 13 casos de câncer e 4 leucopenias, que podem estar relacionados a exposição aos agrotóxicos. Estes registros, apontam para necessidade de desdobramentos de estudos confirmatório sobre mortalidade e fração atribuível da exposição em relação as doenças crônicas com longo período de latência entre a exposição e surgimento da doença.

De modo geral, várias são as questões relacionadas a exposição aos agrotóxicos, seus efeitos a saúde e sua circulação no ambiente decorrentes dos processos produtivos e de consumo. No que tange as questões de formação e informação, para fins de prevenção das exposições e promoção da saúde, estas devem estar acessíveis para os trabalhadores, mas também a todos, tanto dos níveis governamentais como da sociedade civil (CARNEIRO *et al.*, 2015).

O esperado para esses trabalhadores que desenvolvem ações sanitárias de proteção à saúde e informação sobre os riscos das doenças junto à comunidade, realizando visitas aos imóveis e outras localidades para prevenir e controlar doenças como dengue, malária, leishmaniose e doença de Chagas, dentre outras, seria de que pudessem ser prioridade das ações prevenção de sua saúde no exercício do trabalho. Porém o modelo químico-dependente em outros processos produtivos como na agricultura em geral é o mesmo praticado para a saúde pública, de submissão a situações de riscos e potenciais danos à saúde.

Diante das evidências sobre a magnitude dos riscos nos ambientes de trabalho, da continua precarização das relações de trabalho e direitos, agravados pelo silêncio construído em relação as questões que envolvem a proteção aos trabalhadores recomenda-se a implementação de programas de prevenção e promoção da saúde, que considere os fatores de riscos relacionados com a qualidade do sono, bem como o monitoramento das exposições aos agrotóxicos em seus potenciais cumulativo na probabilidade de adoecimentos e alterações clínicas e laboratoriais na saúde dos Agentes de combate às Endemias. Assim como, a American Heart Association recomenda que as organizações de saúde incluam o sono nas diretrizes para saúde ideal, com base em evidências dos estudos que relacionam duração e os distúrbios do sono ao risco cardiometabólico (ST-ONGE, 2016).

REFERENCIAS

ALHOLA, Paula; POLO-KANTOLA, Päivi. Sleep deprivation: Impact on cognitive performance. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 553–567, 2007.

AUGUSTO LG *et al.* Programa de erradicação do *Aedes aegypti*: inócuo e perigoso (e ainda perdulário). **Cadernos de Saúde Pública**, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 876–876, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1998000400031>

AUGUSTO LG *et al.* Saúde, Ambiente e Sustentabilidade: O caso do uso de inseticidas para controle de endemias e pragas urbanas. *In*: CARNEIRO, Fernando Ferreira *et al.* (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: São Paulo: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; Expressão Popular, 2015. *E-book*.

BAJGAR J. LABORATORY EXAMINATION IN NERVE AGENT INTOXICATION. **Acta Médica (Hradec Kralove, Czech Republic)**, [S. l.], v. 56, n. 3, p. 89–96, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.14712/18059694.2014.15>

BERTOLAZI AN, FAGONDES SC, HOFF LS, *et al.* Validação da versão em português do Brasil do Pittsburgh Sleep Quality Index. **Sleep Medicine**, v. 12, p. 70-75, 2011

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Saúde Ambiental, do Trabalhador e Vigilância das Emergências em Saúde Pública. **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias. Volume 1: Arboviroses Transmitidas pelo *Aedes aegypti***. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.. *E-book*.

BUYSSE DJ, REYNOLDS CF, MONK TH, *et al.* O Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh: um novo instrumento para a prática e pesquisa psiquiátrica. **Psychiatry Research**, v.28, p. 193-213, 1989

CADASTRO NACIONAL DE ESTABELECIMENTOS DE SAÚDE (CNES). 2020. Disponível em: http://cnes2.datasus.gov.br/Mod_Ind_Profissional_com_CBO.asp. Acesso em: 20 Jul. 2020.

CARNEIRO, FF *et al.* (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: São Paulo: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; Expressão Popular, 2015. *E-book*.

CENTRO DE ESTUDOS DA SAÚDE DO TRABALHADOR E ECOLOGIA HUMANA (CESTEH). Morte de agentes de combate às endemias/guardas de endemias: luta pelo banimento da malationa (malathion). Saúde & Trabalho Mata Mosquitos: Estudo do Impacto à Saúde de Agentes de Combate às Endemias – RJ, Ano II - 02 - maio/2019. Disponível em: http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/boletim_no_2_0.pdf

COLEONE AC. **Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental**. 2014. Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2014.

CONCHA-BARRIENTOS M, NELSON DI, DRISCOLL T *et al.* Selected occupational

risks. In: Ezzati M, Lopez A, Rodgers A, Murray CJL, eds. **Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors**. Geneva, World Health Organization, 1652–1801, 2004.

DIEKELMANN S; BORN J. The memory function of sleep. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 114–126, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2762>

GRANDNER MA, SANDS-LINCOLN MR, PAK VM, et al. Sleep duration, cardiovascular disease, and proinflammatory biomarkers. **Nature and Science of Sleep**. V. 22, n. 5, p. 93-107, 2013. doi: 10.2147/NSS.S31063.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Some Organophosphate Insecticides and Herbicides**. Lyon, France: [s. n.], 2017. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.

KNUTSON KL. Sleep duration and cardiometabolic risk: a review of the epidemiologic evidence. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. V. 24, n. 5, p. 731-43, 2010. doi: 10.1016/j.beem.2010.07.001.

LARENTIS AL, et al. Adoecimento e mortes de agentes de combate às endemias do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos: crítica ao processo de trabalho e construção coletiva de estratégias de enfrentamento. In: PINA, J. A. et al. (Orgs.). **Saber Operário, Construção de Conhecimento e a Luta dos Trabalhadores pela Saúde**. São Paulo: Hucitec (Saúde em Debate, 331), 2022

LI J, et al. Relationship between cumulative exposure to pesticides and sleep disorders among greenhouse vegetable farmers. **BMC Public Health**. v. 19, n. 1, p. 373, 2019.

LONDRES F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. 2a edição ed. Rio de Janeiro: Rede Brasileira de Justiça Ambiental: Articulação Nacional de Agroecologia, 2012. *E-book*.

LUND HG, REIDER BD, Whiting AB & Prichard JR. Sleep Patterns and Predictors of Disturbed Sleep in a Large Population of College Students. **Journal of Adolescent Health**, v. 46, n. 2, p. 124–132, 2010.

MARTELLI M, et al. Influence of Work on Andropause and Menopause: A Systematic Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 18, n. 19, p. 10074, 2021. doi: 10.3390/ijerph181910074.

PASSOS V, et al. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.15 n.1, 2006. doi: 10.5123/S1679-49742006000100003

RAY DE, RICHARDS PG. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. **Toxicology Letters**. v. 120, n. 1–3, p. 343–351, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(01\)00266-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(01)00266-1)

SILVA JM et al. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 10, n. 4, p. 891–903, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232005000400013>

SINDICATO DOS TRABALHADORES FEDERAIS DA SAÚDE, TRABALHO E PREVIDÊNCIA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (SINDSPREV/RJ). Condições precárias de trabalho, riscos ocupacionais, alterações na saúde dos guardas e agentes de combate às endemias no Estado do Rio de Janeiro. Departamento de Saúde do Trabalhador e da Trabalhadora, 2015.

SINDICATO DOS TRABALHADORES NO COMBATE ÀS ENDEMIAS E SAÚDE PREVENTIVA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (SINTSAÚDERJ). Protesto contra contaminação e mortes de Agentes de Combate às Endemias. 2019. Disponível em: <http://www.sintsauderj.org.br/noticia/sintsauderj-protesto-contr-contaminacao-e-mortes-de-agentes-de-combate-as-endemias>

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A DEFESA AGRÍCOLA (SINDAG). Informações do setor. 2003. Disponível em: <http://www.sindag.com.br/>

ST-ONGE MP, GRANDNER MA, BROWN D, et al. Sleep Duration and Quality: Impact on Lifestyle Behaviors and Cardiometabolic Health: A Scientific Statement from the American Heart Association. **Circulation**. v. 1, n. 134, p. 367-e386, 2016. doi: 10.1161/CIR.0000000000000444.

VIDAL PJ. **Estudo dos transtornos mentais comuns em um grupo de agentes de combate às endemias do estado do rio de janeiro expostos a agrotóxicos**. 2021. Dissertação de Mestrado – Escola Nacional de Saúde Pública, ENSP/Fiocruz, , Rio de Janeiro, 2021.

YOUNG T, PEPPARD PE, TAHERI S. Excess weight and sleep-disordered breathing. **Journal of Applied Physiology**. v. 99, n. 4, p. 1592–1599, 2005.

6.3 ARTIGO 3

QUALIDADE DO SONO E AVALIAÇÕES LABORATORIAIS EM GUARDAS DE ENDEMIAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

RESUMO

INTRODUÇÃO. Estudos sobre distúrbios do sono em trabalhadores submetidos as exposições múltiplas, ainda são poucos usuais. Entretanto, investigações com exposição aos agrotóxicos e outros sobre disfunção sistemas em distúrbios do sono tem apontado o papel central dos hormônios na má qualidade do sono e no desenvolvimento de doenças crônicas. **OBJETIVOS.** Avaliar os parâmetros do ciclo atividade-reposo em Agentes de Combate às Endemias em relação aos parâmetros clínicos e toxicológicos. **MATERIAL E MÉTODOS.** Estudo transversal sobre qualidade do sono e os efeitos de moduladores sistêmicos em 66 Agente de Combate de Endemias. Dados foram coletados sobre processo de trabalho, saúde e realizado exames clínicos e toxicológicos. Para avaliar qualidade do sono foi utilizado o actígrafo ActTrust e/ou ActTrust2 por dez dias consecutivos no braço não dominante. **RESULTADOS.** Sessenta e seis trabalhadores avaliados e verificou-se que a pontuação média de qualidade do sono foi de 7,8 pontos no score PSQI e cerca de 60% da população, foi classificada como com sono não saudável (PSQI > 5). Além de possuir entre 5 e 6 horas de tempo total de sono (TTS), apresentar uma eficiência de 80% desse tempo de sono (Ef) e vigília após o início do sono (WASO) de cerca de 60 minutos. A estabilidade interdiária e variabilidade intradiária foram de 0,48 e 0,80, respectivamente. Houve correlação positiva dos níveis do hormônio T4 Livre com o tempo total de sono (p-valor <0,05). Verificou-se, também, que a variabilidade intradiária (NPCRAIV) teve correlação negativa com os níveis do hormônio. **CONCLUSÃO.** Em trabalhadores ACE, a pior qualidade do sono e parâmetros da actimetria estão correlacionadas com pior modulação autonômica dos hormônios tireoidianos, apesar dos exames dentro da faixa de normalidade.

PALAVRAS-CHAVE. Qualidade do Sono. Agentes de Combate às Endemias. Saúde do Trabalhador.

SLEEP QUALITY IN ENDEMIC WORKERS IN STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL

ABSTRAT

INTRODUCTION. Studies on sleep disorders in workers undergoing multiple exposures are still rare. However, investigations with exposure to pesticides and others on system dysfunction in sleep disorders have pointed out the central role of hormones in poor sleep quality and the development of chronic diseases. **OBJECTIVE.** This study aimed to evaluate the parameters of the rest-activity cycle in Endemic Workers and analyze the correlation of serum concentration of thyroid hormones in workers. **MATERIAL AND METHODS.** Cross-sectional study on sleep quality and systemic modulating effects in 66 Endemic Workers. Data were collected on work process, health and performed clinical and toxicological tests. To evaluate sleep quality, ActTrust and/or ActTrust2 were used for ten consecutive days in the non-dominant arm. Sleep quality was assessed by the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). The workers evaluated were divided according to the scores of the Pittsburg questionnaire between good and poor quality to assess the differences between all variables of the model. **RESULTS.** Sixty-six workers were evaluated, and hormonal changes were correlated with poor sleep quality. The average score of sleep quality was 7.8 points in the PSQI score and about 60% of the studied population was classified as having unhealthy sleep (PSQI > 5). In addition to having between 5 and 6 hours of total sleep time (TTS), present an efficiency of 80% of that sleep time (Ef)and wakefulness after sleep onset (WASO) of about 60 minutes. Stability and variability were 0.48 and 0.80 respectively. There was a positive correlation of levels of the hormone T4 Free with total sleep time (p-value <0.05). It is also verified that intraday variability (NPCRAIV) had a negative correlation with hormone. **CONCLUSION.** In ACE workers, worse sleep quality is correlated with worse autonomic modulation of the endocrine system, with higher scores of the Pittsburgh Sleep Quality Index scales. **KEYWORDS.** Sleep Quality. Endemic Disease . Occupational Health.

INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos estão relacionados a doenças agudas e crônicas, como distúrbios neurológicos. No Brasil, os trabalhadores conhecidos como “Agentes de Combate às Endemias”, com atribuições de “combate” de vetores, estão sujeitos à exposição crônica e cumulativa pelo uso intensivo de agrotóxicos, alguns deles proibidos ou restritos em outros países. Entre os efeitos à saúde de exposição a agrotóxicos, surgem os distúrbios do sono, que por sua vez levam ao desenvolvimento de sintomas que desregulam os sistemas neurológico, cardíaco, respiratório e hormonal, dentre outros, bem como o desempenho psicomotor, a consolidação da memória, a criatividade e a tomada de decisões (ALHOLA e POLO-KANTOLA, 2017; MEIRELES *et al.*, 2022).

Os distúrbios do sono também estão relacionados a riscos aumentados de morbidade e mortalidade (CAPPUCCIO, 2010, FERRIE, 2007), depressão (NUTT, 2008), problemas de saúde mental (APPLETON, 2018), disfunção metabólica (NEDELTCHEVA, 2014), e disfunção cognitiva entre as populações adultas (ALHOLA e POLO-KANTOLA, 2017).

Desta forma, entre os sintomas decorrentes da exposição crônica aos agrotóxicos, destaca-se a restrição aguda e crônica do sono, que afeta o desempenho psicomotor, consolidação da memória, criatividade, riscos na tomada de decisão, redução do desempenho e os riscos de acidentes (DIEKELMANN, 2010; LI, 2019).

Cremonese (2014) em estudo sobre exposição aos agrotóxicos em trabalhadores rurais observou que grande parte dos agrotóxicos apresenta capacidade de desregulação do sistema endócrino humano, o que altera os níveis de hormônios sexuais e causa efeitos adversos.

Everson *et al.* (2002) em investigação sobre a privação do sono em ratos examinou as respostas transcricionais relacionadas à regulação do hormônio liberador de tireotrofina (TRH) após a privação do sono, verificou declínios progressivos nas concentrações circulantes de tiroxina total e livre (T4) e triiodotironina (T3) sem um aumento esperado no hormônio estimulante da tireoide (TSH) no plasma.

A relação entre qualidade do sono e hormônios tem sido largamente reconhecida como um dos principais efeitos moduladores do sistema endócrino. Neste estudo, objetivamos avaliar os parâmetros do ciclo atividade-repouso em Agentes de Combate às Endemias e analisar a correlação de concentração sérica de hormônios tireoidianos em trabalhadores.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo transversal sobre qualidade do sono e os efeitos moduladores sistêmicos em 78 Agente de Combate as Endemias federais, vinculados ao Ministério da Saúde. A amostra foi por conveniência, provenientes do projeto de pesquisa multicêntrica com "Agentes de Combate a Doenças Endêmicas" do Rio de Janeiro, Brasil, que recrutou os trabalhadores para o estudo durante os meses de maio e julho de 2022.

A coleta dos dados sociodemográficos e ocupacionais sobre as condições de trabalho e histórico de saúde foram registrados no questionário que abrangeu, além dessa subamostra de 78 indivíduos, todos os trabalhadores em investigação (n=515), mediante o preenchimento de questionário individual online, originado pelo projeto integrador, adaptado para uso em período de pandemia e distanciamento social.

Análise da qualidade do sono

A qualidade do sono foi avaliada pelo Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI), que avalia sete componentes do sono: qualidade subjetiva do sono, latência do sono, duração do sono, eficiência do sono, distúrbios do sono, uso de medicamentos e disfunção diurna. A pontuação pode variar de 0 a 3 para cada componente, com pontuação total máxima de 21 pontos. Pontuações acima de 5 pontos indicam má qualidade do sono.

Para além do questionário, a fim de obter informações sobre o ciclo atividade-reposo, os agentes de endemias foram orientados a utilizar o actígrafo ActTrust e/ou ActTrust2 (Condor *Instruments*®, São Paulo, SP, Brasil) por dez dias consecutivos no braço não dominante. O ACT é um acelerômetro que estima a frequência do movimento, sendo possível coletar os dados de tempo total do sono, latência do sono, eficiência do sono, duração dos cochilos e despertares noturnos após o início do sono.

Assim como, para descrever a forma e consistência do padrão de 24 h de atividade e repouso, foram realizadas análises não paramétricas (NPCRA) do ritmo circadiano (COLE *et. al.*, 1992). Foram extraídos os seguintes dados não paramétricos: estabilidade interdiária (IS), que varia de 0 a 1 e representa a sincronização entre o ritmo interno de atividade e repouso (valor 0 indica total falta de ritmo e o valor 1 indica um ritmo perfeitamente estável); variabilidade intradiária (IV), que varia de 0 a 2 e representa a fragmentação dos períodos de atividade-reposo dentro de cada período de 24 horas. A variável tem um intervalo teórico de 0 a 2 com valores mais altos indicando maior fragmentação, os valores típicos para indivíduos saudáveis são abaixo de 1.

Para as medições de actimetria, os trabalhadores foram orientados a utilizar o aparelho por 10 noites (de terça-feira até sexta-feira da outra semana) e a preencher os diários de sono/atividade para complementar as informações registradas pelo actímetro. Foram considerados os dados com no mínimo 5 dias de mensuração, de atividade do aparelho, totalizando uma população de 66 trabalhadores (16 mulheres e 50 homens), com idade entre 22 e 70 anos e média de 57 anos.

A decisão desse período levou em consideração estudos que sugerem medições mínimas de duas noites ou pelo menos 72 horas. E, para uma medição confiável da eficiência do sono, da qualidade do sono autorrelatada e tempo total de sono são necessárias medições de pelo menos cinco, seis e mais de sete noites, respectivamente. No entanto, se as medições forem realizadas, para obter uma estimativa mais objetiva e subjetiva confiável da semana, as medições no início da semana são mais propensas a fornecer informações adequadas sobre os padrões de sono/vigília semanais, quando comparadas com as capturas dos dias de final de semana (AILI *et al.*, 2017; ANCOLLI-ISRAEL *et al.*, 2015)

Os dados sobre o ciclo atividade/repouso foram analisados utilizando o software ActStudio Alpha versão 1.024Win.

Análises biológicas

Sangue e urina foram coletados para análises clínicas de hemograma completo e hormônios tireoidianos TSH, T4 Livre; dos biomarcadores de efeito, acetilcolinesterase (ACHE), butirilcolinesterase (BCHE), gama glutamil transferase (GGT) MDA e Catalase e de exposição DDT, DDe e HCH, desses trabalhadores.

As análises estatísticas foram realizadas no software R, versão 4.2.1. E foi utilizado os pacotes: Fruved, ggplot2 e epiDisplay.

RESULTADOS

A pontuação média de qualidade do sono foi de 7,8 pontos no score PSQI e cerca de 60% da população estudada, foi classificada como com sono não saudável (PSQI > 5). Além de possuir entre 5 e 6 horas de tempo total de sono (TTS), apresentar uma eficiência de 80% desse tempo de sono (Ef) e vigília após o início do sono (WASO) de cerca de 60 minutos. A estabilidade e variabilidade foram de 0,48 e 0,80 respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Características do Ciclo Sono e Vigília, mensurados por questionário de qualidade do sono e actimetria

<i>Variáveis</i>	<i>Média (IQR)</i>
Qualidade do sono	
<i>Pontuação do PSQI</i>	7,7 (4-11)
<i>Boa qualidade do sono (≤ 5), n (%)</i>	24 (36,3)
<i>Limítrofe (6-7), n (%)</i>	10 (15,1)
<i>Má qualidade do sono (≥ 8), n (%)</i>	32 (48,5)
Actimetria	
<i>TTS, horas: min</i>	5:44 (5:0-6:33)
<i>TTS <7 h, n (%)</i>	58 (88)
<i>Ef, %</i>	81,2 (73,3-87,1)
<i>Ef <85%, n (%)</i>	42 (64)
<i>WASO, minutos</i>	61(36-76)
<i>WASO >30 min, n (%)</i>	54 (82)
<i>D</i>	8,7 (5,2-10,9)
Não Paramétricas	
<i>Componente Circadiano NPCRA(IS)</i>	0,48 (0,41-0,76)
<i>Componente Homeostático NPCRA(IV)</i>	0,80 (0,68-0,90)

PSQI = Pontuação do Índice de Qualidade do sono de Ptsburbh, TTS = Tempo Total de Sono, Ef= Eficiência do sono, WASO = Tempo de vigília após o início do sono (Wake After Sleep Onset), D= Despertares, NPCRA(IS) = Estabilidade interdiária, NPCRA(IV) = Variabilidade Interdiária

As variáveis clínicas e laboratoriais como, linfócitos, plaquetas, níveis de acetilcolinesterase (ACHE), butirilcolinesterase (BCHE), gama glutamil transferase (GGT) e níveis dos hormônios TSH e T4 Livre não diferiram entre os sexos com boa e má qualidade do sono (Tabela 2). Houveram indivíduos com concentrações mais próximas do limítrofe, alguns abaixo dos níveis considerados normais e não diferiram entre os grupos (Figural).

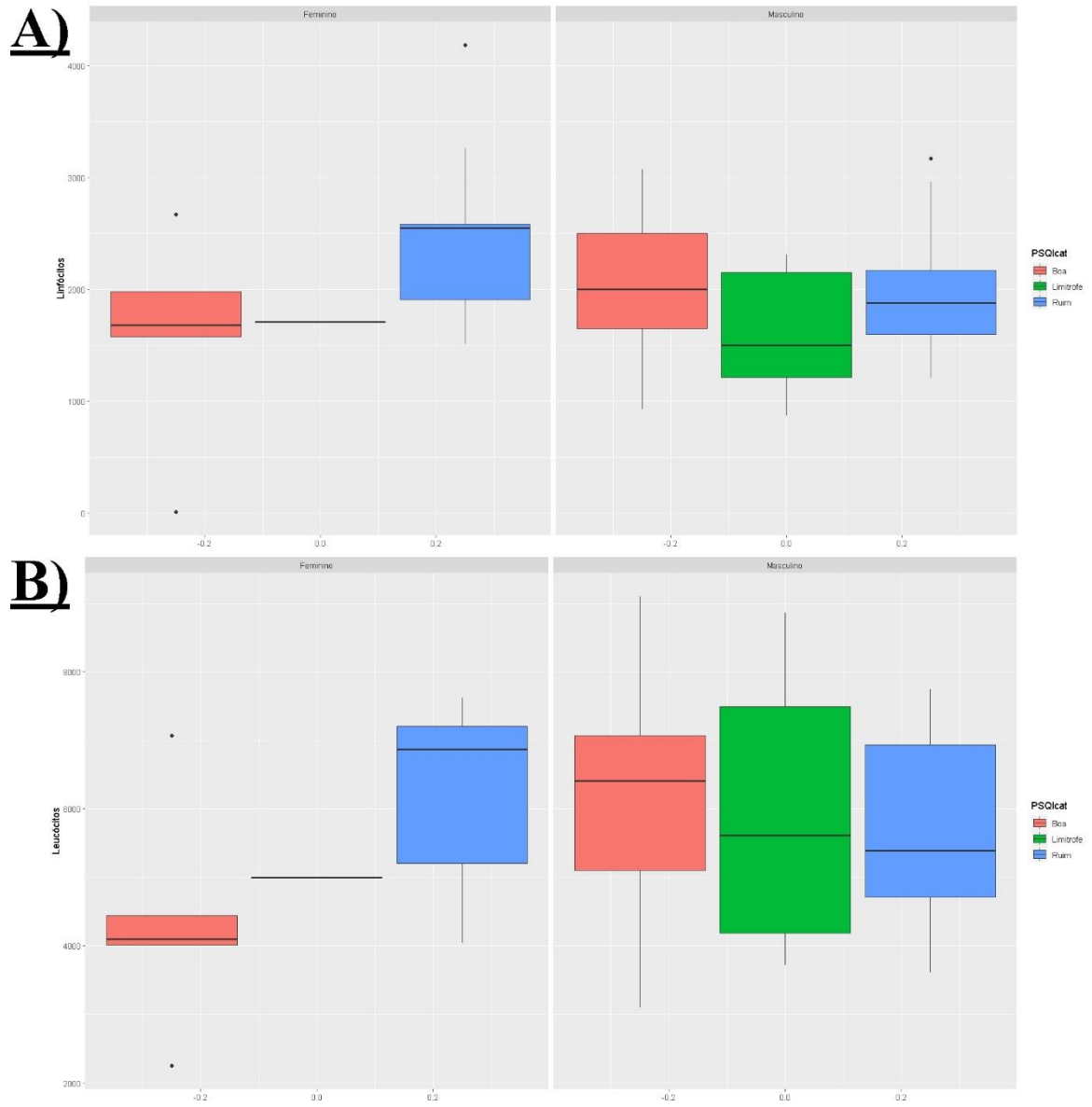
Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais por sexo e qualidade do sono (PSQI)

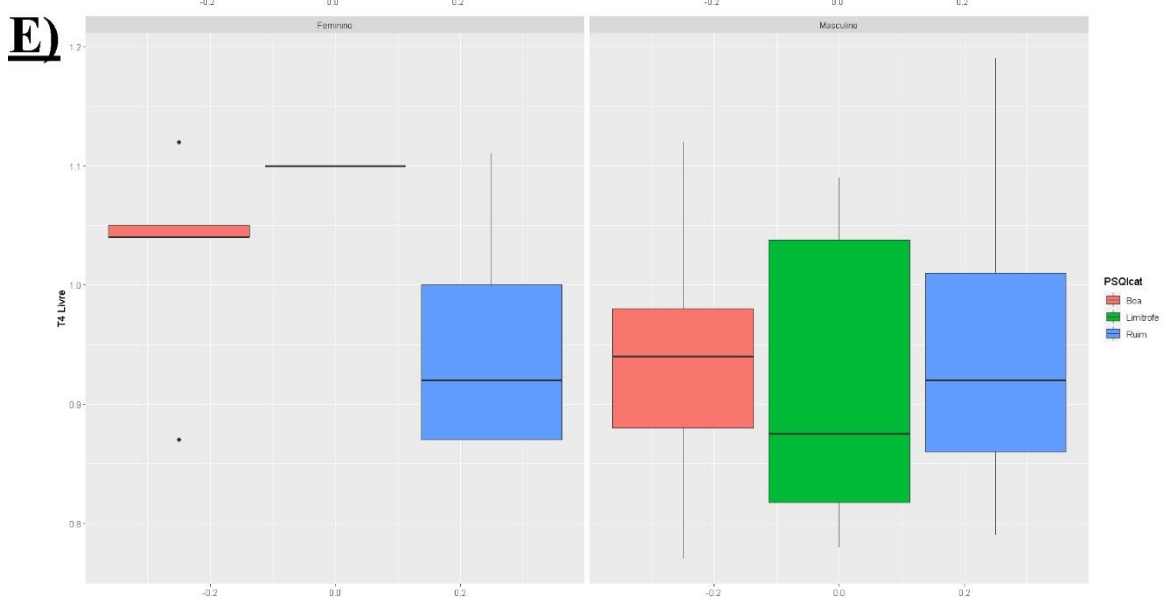
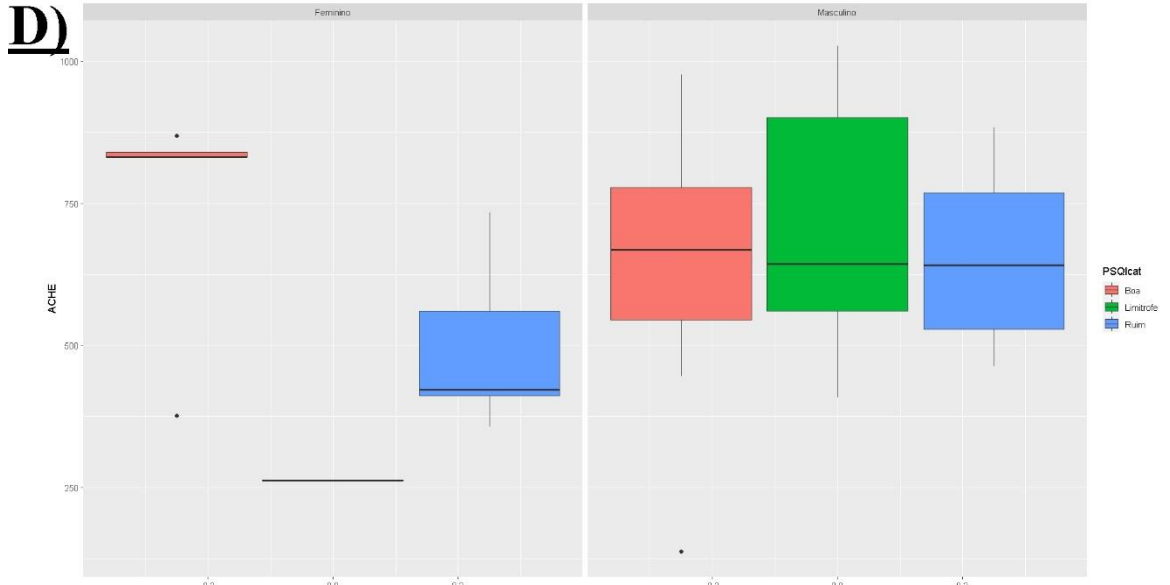
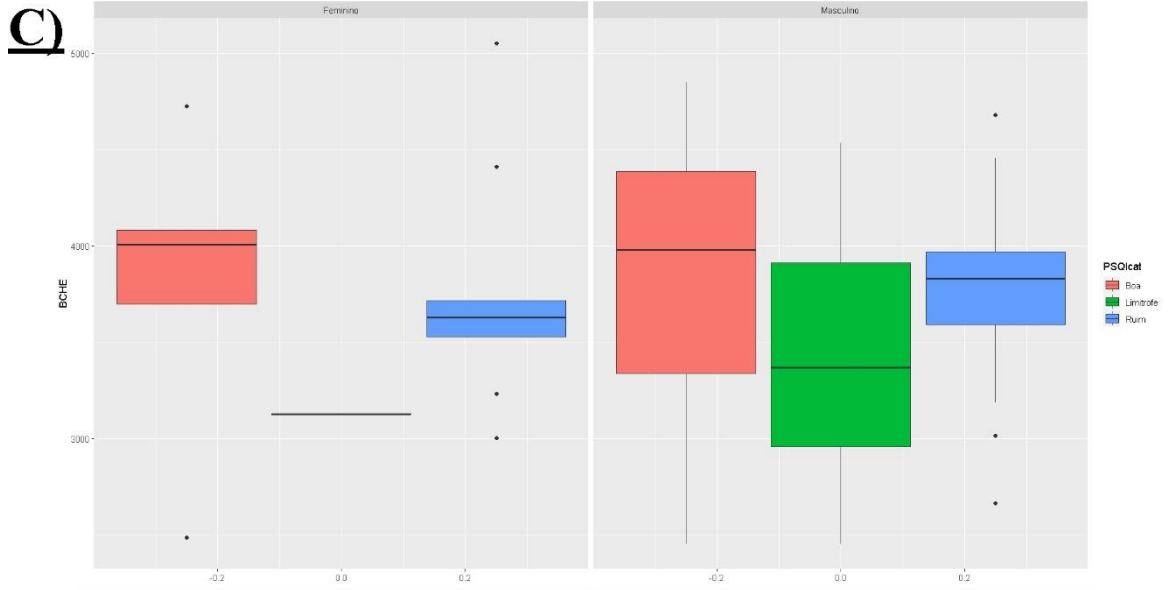
Exames	PSQI ≤5 (n= 24)			PSQI >5 (n= 42)		
	Mulheres (n=5)	Homens (n=19)	p- valor	Mulheres (n=11)	Homens (n=31)	p- valor
	média+-DP mediana	média+-DP mediana		média+-DP mediana	média+-DP mediana	
Leucócitos (mm3)	4374+-1731 4100	..	0,06	5900+-1384 5330	5955+-1923 5440	0,77
Linfócitos (mm3)	1584+-977 1681	2007+-644 2002	0,44	2363+-808 2360	2131+-1312 1890	0,16
Plaquetas (mm3 por mil)	227,6+-60,4 207	220,7+-48,8 219	0,83	275,5+-75,2 280	228,1+-49,6 223	0,10
ACHE (U/g proteína)	749,7+- 209,1 831,9	647,2+-189,4 668	0,12	472,9+-135,1 421,8	668,2+-167,9 641,5	0,0013
BCHE (U/L)	3800+-823 4007	3874+-688 3981	0,89	3823+-711 3629	3647+-565 3766	1
GGT (U/L)	38,6+-42 26	57,4+-12,2 33	0,09	27,5+-13,2 24	47+-60 32	0,051
TSH (μUI/mL)	1,3+-0,7 1,1	1,9+-1,7 1,4	0,4	2,6+-2,9 1,5	1,6+-0,8 1,6	0,5
T4 Livre (ng/dL)	1,02+-0,09 1,04	0,93+-0,08 0,94	0,059	0,95+-0,08 0,93	0,93+-0,10 0,91	0,3
MDA	4,2+-2,57 3,2	3,7+-1,6 3,07	1	4,3+-2,07 3,8	4,08+-2,08 3,9	0,6
CAT	291+-29 309	223+-46 228	0,003	239+-33 285	225+-48 232	0,28

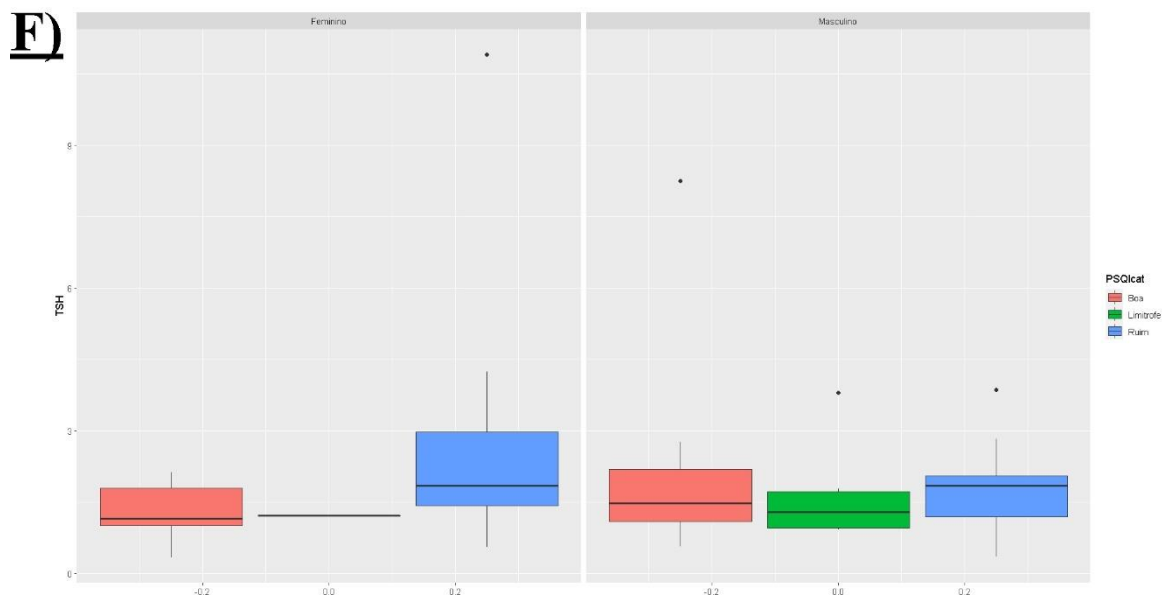
Boa qualidade do sono (PSQI ≤5) e má qualidade do sono (PSQI >5)

ACHE = acetilcolinesterase, BCHE= butirilcolinesterase, GGT = gama glutamil transferase, TSH = Hormônio estimulador da tireoide (Thyroid-Stimulating Hormone), T4 Livre = Tiroxina livre. Valores de referência para Leucócitos = 4000/mm³-10000/mm³, Linfócitos = 1000/mm³ – 3000/mm³, Plaquetas = 150000/mm³ – 400000/mm³, ACHE = acima de 560 U/g proteína, BCHE = acima de 2900U/L para homens e acima de 1600U/l para mulheres, GGT = 07U/L - 58 U/L, TSH = 0,35μUI/mL – 4,94 μUI/mL e T4 Livre = 0,70ng/dL – 1,48 ng/dL.

Figura 1. Distribuição dos exames clínicos e laboratoriais por qualidade de sono e sexo







Distribuição de A) Linfócitos, B) Leucócitos, C) BCHE, D) ACHE, E) T4 Livre e F) TSH por qualidade do sono e sexo. ACHE = acetilcolinesterase, BCHE= butirilcolinesterase, TSH = Hormônio estimulador da tireoide (Thyroid-Stimulating Hormone), T4 Livre = Tiroxina livre. Valores de referência para Leucócitos = $4000/\text{mm}^3$ - $10000/\text{mm}^3$, Linfócitos = $1000/\text{mm}^3$ – $3000/\text{mm}^3$, ACHE = acima de 560 U/g proteína, BCHE = acima de 2900U/L para homens e acima de 1600U/l para mulheres, TSH = $0,35\mu\text{UI}/\text{mL}$ – $4,94\mu\text{UI}/\text{mL}$ e T4 Livre = $0,70\text{ng}/\text{dL}$ – $1,48\text{ng}/\text{dL}$.

Houve correlação positiva dos níveis do hormônio T4 Livre com o tempo total de sono (Tabela 3, Figuras 2B). Verifica-se também que a variável de variabilidade intradiária (NPCRAIV) teve correlação negativa com hormônio (Tabela 3, Figuras 1A e 1D).

Tabela 3. Correlação do hormônio T4 Livre com parâmetros do ciclo vigília-sono.

Correlação com T4 Livre	r	p
Tempo Total de Sono (TTS)	0,2972	0,019
Teste não paramétrico de Variabilidade Interdiária (NPCRAIV)	- 0,2874	0,015
Teste não paramétrico de Variabilidade Intradiária (NPCRAIS)	0,09	0,46
Eficiência do sono	0,2	0,09

TTS = Tempo Total de Sono, NPCRA(IV) = Teste não paramétrico de Variabilidade Interdiária, NPCRA(IS) = Teste não paramétrico de Estabilidade Intradiária

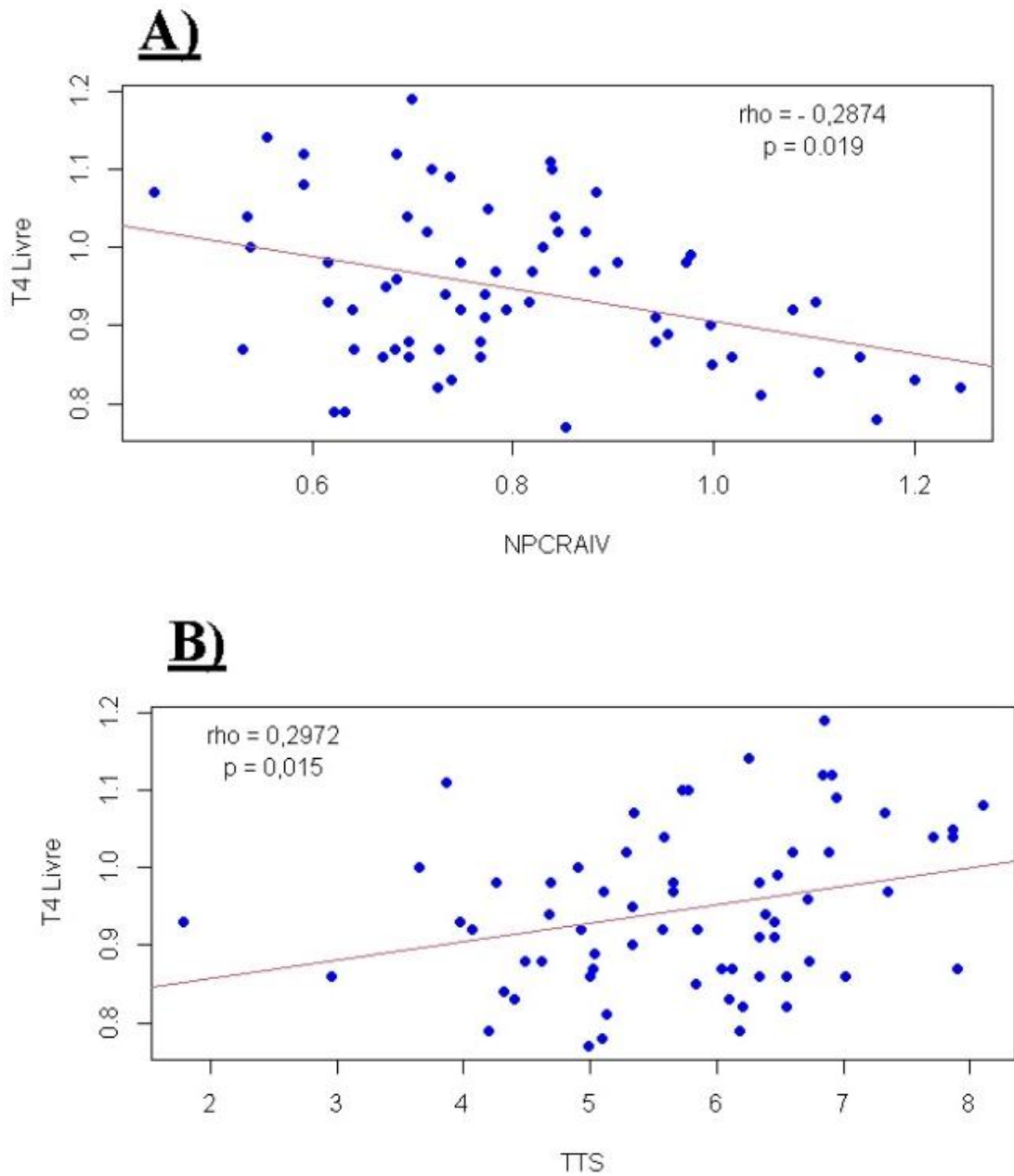
Foram encontrados resíduos de 4,4'-DDE; 4,4'-DDT e beta-HCH em alguns trabalhadores (Tabela 4)

Tabela 4. Marcadores de exposição.

	<LDM (n)	<LQM (n)	(n) Média+-DP mediana
4,4'-DDE	25	4	(37) 0,99+-1,36 0,62
4,4'-DDT	55	5	(6) 0,16+-0,013 0,17
beta-HCH	59	-	(7) 0,16+-0,06 0,15

<LDM = Abaixo do Limite de Detecção do Método, <LQM = A baixo do Limite de Quantificação do Método

Figura 2. Correlação do hormônio T4 Livre com parâmetros do ciclo vigília-sono.



A) T4 Livre e NPCRAIV, B) T4 Livre e TTS; TTS = Tempo Total de Sono, NPCRA(IV) = Teste não paramétrico de Variabilidade Intermediária

DISCUSSÃO

Nossos achados evidenciam que as características da qualidade do sono e ritmo circadiano, mensurados por questionário de qualidade do sono e actimetria, em geral, a população apresenta qualidade do sono não saudável e em torno de 5 a 6 horas de sono total por noite.

A redução do sono entre quatro e seis horas por noite tem diversos efeitos adversos, incluindo danos ao estado neuro cognitivo, humor e metabolismo (SPIEGEL; LEPROULT; VAN CAUTER, 1999). Outros autores sugerem que o sono reduzido aumenta o risco de desenvolver aterosclerose, doenças cardíacas, resistência à insulina, obesidade e doenças cardiometabólicas (AXELSSON *et al.*, 2013; AYAS *et al.*, 2003a; LASSELIN *et al.*, 2015; AYAS *et al.*, 2003b; PATEL *et al.*, 2009; RANGARAJ; KNUTSON, 2016). Além de levar a acidentes de trabalho (LAUGSAND *et al.*, 2014).

Apesar dos valores dos exames, na sua maioria, estarem dentro dos limites de normalidade, estes representam efeitos subclínicos, onde ocorre discreta diminuição em suas concentrações. Esses valores evidenciam a importância e necessidade da realização de exames periódicos e a série histórica para o monitoramento dos trabalhadores ao longo do período de trabalho. Foram encontrados trabalhadores com resultados fora dos limites de normalidade para Linfócitos (n=4), colinesterases (ACHE n=24 e BCHE n=5 homens), além de identificação de hipotireoidismo subclínico (definido como uma elevação da TSH e concentrações de hormônios tireoidianos, como T4 Livre, dentro da faixa de normalidade) e identificação de dois casos de Linfocitose ($>3000/\text{mm}^3$), sendo um dos casos apresentando Leucocitose ($>10000/\text{mm}^3$). Também, foi encontrado um caso com exames de leucometria com índice abaixo de 20% (Leuc=2.250) e queda significativa, conforme recomendação do protocolo do Ministério da Saúde (Portaria MS 776/2004, integrado a Portaria MS 5/2017) (BRASILa, 2022). Segundo a classificação de Fonseca *et al.* (2017), para os 16 casos com variações menores de alterações hematológicas, como os que encontramos nesse estudo (n=16; leuc=2250 - 4500), podemos considerá-los e incluir enquanto população exposta, para avaliação clínica e vigilância da exposição.

No Brasil, a compulsoriedade e sistematicidade da realização dos exames de contagem de células sanguíneas é obrigatória para empresas de diversos ramos produtivos, mediante realização de exames periódicos e fiscalização das áreas de saúde e segurança, previsto no Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional - PCMSO (NR7) e o Programa de Riscos Ambientais (NR9) (BRASILb, 2022, BRASILc, 2022). Entretanto, para o serviço público, ainda não há regulamentação para fins de monitoramento da exposição,

apesar de ser demanda dos trabalhadores e determinação judicial para realização dos exames periódicos, não efetuados há muitos anos (LARENTIS *et al.*, 2022).

Diante os resultados de hematimetria dos ACE, sugere-se a utilização da classificação clínico-laboratorial de Fonseca *et al.* (2017) que adota o critério hematimétrico de contagem total de leucócitos na faixa de 4.500 – 11.000/mm³, de acordo com o protocolo, considerando como leucopenia os valores abaixo do limite mínimo. Esse parâmetro, mais elevado do limite inferior aumenta a sensibilidade da avaliação para garantir a inclusão de possíveis falsos negativos na população investigada. A classificação organiza os trabalhadores em quatro níveis: Grupo 1 – Sem alterações clínico-laboratoriais significativas; Grupo 2 – Alterações clínico-laboratoriais inespecíficas ou avaliações incompletas; Grupo 3 – Alterações clínicas com/sem alterações laboratoriais; ou alterações laboratoriais sem alterações clínicas; Grupo 4 – Alterações clínico-laboratoriais sugestivas de leucopenia. O Grupo 4 inclui aqueles trabalhadores com queda relevante e persistente da leucometria, constatada por meio de três exames com intervalo de 15 dias, com ou sem outras alterações associadas. Portanto, a investigação de intoxicação ocupacional deve ser realizada mediante a presença de alterações hematológicas em hemogramas seriados, mesmo na ausência de outros achados clínicos que as justifiquem.

Os níveis de T4 Livre podem indicar o estado da qualidade do sono atual e sua associação já está bem estabelecida na literatura (GREEN, BERNET e CHEUNG, 2021; CARNEIRO, *et al.*, 2022). Embora nenhuma conexão bioquímica direta tenha sido estabelecida, o hipotireoidismo pode afetar a qualidade geral do sono. Alguns estudos mostraram uma relação entre hipotireoidismo subclínico e baixa qualidade do sono. Song *et al.* (2019) mostraram que pessoas com níveis mais baixos de hormônios da tireoide, geralmente apresentam maior latência do sono, duração mais curta do sono e menor satisfação com a qualidade do sono em comparação com indivíduos eutireoidianos. Xia *et al.* (2013) demonstraram uma correlação direta entre os níveis de hormônio estimulador da tireoide (TSH), T4 e a gravidade dos sintomas da insônia.

Uma possível razão levantada pela qual o hipotireoidismo e a insônia podem ocorrer é por causa dos sintomas associados à deficiência de hormônio. Por exemplo, a tireoide hipoativa está associada a dores musculares e articulares, intolerância ao frio e aumento da ansiedade, e esses sintomas podem contribuir para deficiências do sono. Budhiraja *et al.* (2011) sugerem que um maior número de comorbidades médicas está associado a um maior risco de insônia. Mesmo que a deficiência de hormônio da tireoide não esteja causando insônia diretamente, a ampla gama de sintomas associados à disfunção da

tireoide facilmente exacerba as dificuldades para dormir e reduz a capacidade de uma pessoa alcançar um sono reparador e de qualidade.

A disfunção da tireoide contribui para uma infinidade de sintomas que envolvem quase todos os sistemas do corpo, incluindo a função do sono. Embora as evidências atuais sugiram que os níveis de hormônio da tireoide não são marcadores diretos da alteração do sono, a disfunção da tireoide está claramente relacionada com a capacidade de uma pessoa de obter um sono saudável e repousante. Além disso, sabe-se que a disfunção da tireoide afeta muitos sistemas corporais e que tireoide e disfunção do sono geralmente coocorrem, porém, atualmente, o mecanismo exato subjacente à interação dos distúrbios do sono e tireoide permanece incerto (XIA *et al.*, 2013).

Para os exames de marcadores de exposição, a maioria foram de quantificações abaixo do limite de detecção e quantificação do método para 4,4'-DDE (n=29 | 43 %), 4,4'-DDT (n=60 | 90 %) e beta-HCH (n= 59 | 89 %) e concentrações médias para 4,4'-DDE (n=37) 0,99; 4,4'-DDT (n=6) 0,16 e beta-HCH (n=7) 0,16 foram encontradas.

Apesar dos avanços desse estudo, uma das limitações foi o pequeno tamanho da amostra, devido as restrições das condições técnicas do acesso dos pesquisadores aos trabalhadores, no período de distanciamento social da covid-19, que implicou em redução dos objetivos, exames e contatos com os trabalhadores.

Potencial viés pode ter ocorrido, como por exemplo o viés do trabalhador saudável, que pode ter influenciado os resultados dos exames. O efeito do trabalhador saudável é comumente ajustado, em estudos populacionais, devido os trabalhadores mais saudáveis ingressarem e permanecerem no emprego, enquanto aqueles com doenças graves são afastados do trabalho ou da exposição. Outra questão, refere-se à exigência de condições saudáveis para a seleção de trabalhadores, em relação aos demais indivíduos da população. Portanto, o efeito do trabalhador saudável poder produzir erros na análise dos resultados, reduzindo o real impacto da doença, ao comparar estimativas com a população em geral, como referente.

Por outro lado, o ponto forte desse estudo foi a abrangência análises realizadas, com medidas oriundas de dados primários, análises clínicas, toxicológicas, com abordagem interdisciplinares e com a participação dos trabalhadores em todas as etapas do estudo. Essas condições são muito relevantes, especialmente em países como o Brasil, onde há insuficiência de dados individuais de monitoramento biológico e de exposição nos ambientes de trabalho. Além disso, a actimetria apresenta benefícios sobre a polissonografia (padrão ouro para avaliação do sono) devido a não necessidade de técnico do sono para utili-

zar o aparelho; custos baixos; é capaz de avaliar o ciclo atividade-repouso ao longo de vários dias consecutivos e em situação cotidiana que reflete a realidade (e não uma noite em laboratório com plugs ligados); pode ser usado no ambiente natural do indivíduo e tem maior capacidade de obter estimativas dos parâmetros do sono quando os pacientes podem não conseguir relatá-los e, também, por permitir a elaboração de estudos epidemiológicos. A irritação da pele é o único dano relatado pelo uso do actímetro (GARCIA *et al.*, 2020).

Por essas exposições serem em grande parte evitáveis, seus resultados limítrofes ou subclínicos representam, especialmente para os gestores da saúde pública, importante fonte de informações que permite conhecer a carga atribuída à exposição ao agrotóxicos e alterações do sono para orientar o planejamento para a redução de fatores de riscos e o monitoramento da exposição, embasadas em estratégias de prevenção à saúde dos trabalhadores que considere o princípio da precaução, diante da gravidade dos riscos ambientes de trabalho com exposições múltiplas e a incerteza científicas dos danos, especialmente em desfechos de doenças com longo período de latência, como as relacionadas a exposição aos agrotóxicos e seus efeitos sinérgicos.

REFERENCIAS

AILI K, et al. Reliability of Actigraphy and Subjective Sleep Measurements in Adults: The Design of Sleep Assessments. **Journal of Clinical Sleep Medicine**, v. 13, n. 01, p. 39–47, 2017.

ALHOLA, Paula; POLO-KANTOLA, Päivi. Sleep deprivation: Impact on cognitive performance. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 553–567, 2007.

ANCOLI-ISRAEL S et al. The SBSM Guide to Actigraphy Monitoring: Clinical and Research Applications. **Behavioral Sleep Medicine**, v. 13, n. sup1, p. S4–S38, 2015.

APPLETON SL, et al. Prevalence and comorbidity of sleep conditions in Australian adults: 2016 sleep Health Foundation national survey. **Sleep Health**. v. 4, n. 1, p. 13–19, 2018. doi: 10.1016/j.sleh.2017.10.006

AXELSSON J et al. Effects of Sustained Sleep Restriction on Mitogen-Stimulated Cytokines, Chemokines and T Helper 1/ T Helper 2 Balance in Humans. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, p. e82291, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082291>

AYAS NT et al. A Prospective Study of Self-Reported Sleep Duration and Incident Diabetes in Women. **Diabetes Care**, v. 26, n. 2, p. 380–384, 2003a. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diacare.26.2.380>

BRASILa. Ministério da Saúde. Portaria nº 5 de 28 de setembro de 2017. Dispõe sobre a consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 set 2020. Disponível em: https://portalsinan.saude.gov.br/images/documentos/Legislacoes/Portaria_Consolidacao_5_28_SETEMBRO_2017.pdf

BRASILb. Ministério da Economia. Secretaria Especial de Previdência e trabalho. Portaria SEPRT n.º 6.734, de 10 de março de 2020. Norma Regulamentadora n.º 7 - NR7. Dispõe sobre o Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional – PCMSO. NR7. Acesso: 26/09/2022. Disponível: <https://www.gov.br/trabalho-e-previdencia/pt-br/composicao/orgaos-especificos/secretaria-de-trabalho/inspecao/seguranca-e-saude-no-trabalho/normas-regulamentadoras/nr-07-atualizada-2022.pdf>

BRASILc. Ministério da Economia. Secretaria Especial de Previdência e Trabalho. Portaria SEPRT n.º 8.873, de 23 de julho de 2021. Norma Regulamentadora n.º 9 – NR9. Dispõe sobre o - Avaliação e Controle das Exposições Ocupacionais a Agentes Físicos, Químicos e Biológicos. Acesso: 26/09/2022. Disponível: <https://www.gov.br/trabalho-e-previdencia/pt-br/composicao/orgaos-especificos/secretaria-de-trabalho/inspecao/seguranca-e-saude-no-trabalho/normas-regulamentadoras/nr-09-atualizada-2021-com-anexos-vibra-e-calor.pdf>

BUDHIRAJA R et al. Prevalence and Polysomnographic Correlates of Insomnia Comorbid with Medical Disorders. **SLEEP**, v. 34, n. 7, p. 859–867, 2011.

CAPPUCCIO FP, et al. Sleep duration and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. **SLEEP**. v. 33, n. 5, p. 585–592, 2010. doi: 10.1093/sleep/33.5.585.

CARNEIRO, ER et al. Correlation of sleep quality and cardiac autonomic modulation in

hemodialysis patients. **Sleep Science**. v. 15, p. 59–64, 2022.

COLE RJ, et al. Automatic Sleep/Wake Identification From Wrist Activity. **SLEEP**. v. 15, n. 5, p. 461–469, 1992.

CREMONESE C. **Exposição a agrotóxicos e distúrbios reprodutivos: estudo em trabalhadores rurais, seus familiares e jovens do município de farroupilha – rs**. Tese de Doutorado. Ensp/Fiocruz. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/13159>

DIEKELMANN S; BORN J. The memory function of sleep. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 11, n. 2, p. 114–126, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2762>

EVERSON CA, NOWAK JR, THADDEUS S. Hypothalamic thyrotropin-releasing hormone mRNA responses to hypothyroxinemia induced by sleep deprivation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 283, n. 1, p. E85-E93, 2002.

FERRIE JE, et al. A prospective study of change in sleep duration: associations with mortality in the Whitehall II cohort. **SLEEP**. v. 30, n. 12, p. 1659–1666, 2007. doi: 10.1093/sleep/30.12.1659.

FONSECA ASA, et al. Classificação clínico-laboratorial para manejo clínico de trabalhadores expostos ao benzeno em postos de revenda de combustíveis. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**. v. 42, epub, 2017.

GARCIA AS, et al. Actigraphy versus Polysomnography to Identify Changes in the Sleep Patterns of Adults with Insomnia. **Revista Neurociências**. v. 28, p. 1–25, 2020.

GREEN ME, BERNET V, CHEUNG, J. Thyroid Dysfunction and Sleep Disorders. **Frontiers in Endocrinology**. v. 12, p. 725-829, 2021.

LARENTIS AL, et al. Adoecimento e mortes de agentes de combate às endemias no estado do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos: crítica ao processo de trabalho e construção coletiva de estratégias de enfrentamento. *In*: PINA, J. A. et al. (Orgs.). **Saber Operário, Construção de Conhecimento e a Luta dos Trabalhadores pela Saúde**. São Paulo: Hucitec (Saúde em Debate, 331), 2021

LASSELIN, J et al. Effect of long-term sleep restriction and subsequent recovery sleep on the diurnal rhythms of white blood cell subpopulations. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 47, p. 93–99, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.10.004>

LAUGSAND LE, et al. Insomnia Symptoms and Risk for Unintentional Fatal Injuries—The HUNT Study. **SLEEP**. v. 37, n. 11, p. 1777–1786, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5665/sleep.4170>

LI J, et al. Relationship between cumulative exposure to pesticides and sleep disorders among greenhouse vegetable farmers. **BMC Public Health**. v. 19, n. 1, p. 373, 2019.

MEIRELLES LC, et. al. Agentes de combate às endemias: uma população em risco no enfrentamento da covid-19. *In*: REIS LG, PORTELA MC E LIMA SML (Org). **Instant Book COVID-19 – Desafios para organização e repercussões no sistema e serviços de saúde**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz/Scielo Livros. 2022. *E-book*.

NEDELTCHEVA AV, FAJL S. Metabolic effects of sleep disruption, links to obesity and diabetes. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**. v. 21, n. 4, p. 293–298, 2014. doi: 10.1097/MED.0000000000000082.

NUTT D, WILSON S, PATERSON L. Sleep disorders as core symptoms of depression. **Dialogues in Clinical Neuroscience**. v. 10, n. 3, p. 329–336, 2008.

PATEL SR, et al. Sleep duration and biomarkers of inflammation. **SLEEP**. v. 32, n. 2, p. 200–204, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/sleep/32.2.200>

RANGARAJ, VITTOBAI R, KNUTSON, KL. Association between sleep deficiency and cardiometabolic disease: implications for health disparities. **Sleep Medicine**. v. 18, p. 19–35, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2015.02.535>

SONG L et al. The Association Between Subclinical Hypothyroidism and Sleep Quality: A Population-Based Study. **Risk Management and Healthcare Policy**. v. 12, p. 369–374, 2019.

SPIEGEL K, LEPROULT R, VAN CAUTER E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. **The Lancet**. v. 354, n. 9188, p. 1435–1439, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)01376-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)01376-8)

XIA L et al. Alterations in Hypothalamus-Pituitary-Adrenal/Thyroid Axes and Gonadotropin-Releasing Hormone in the Patients with Primary Insomnia: A Clinical Research. **PLoS ONE**. v. 8, n. 8, p. e71065, 2013.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil é um dos maiores produtores e consumidores de agrotóxicos. Embora o conhecimento sobre os efeitos adversos sobre o impacto do uso dos agrotóxicos à saúde em trabalhadores tenha crescido, nos últimos anos, em grande escala eles se concentram em análises relacionados ao trabalho rural e nos agricultores. Trabalhadores que atuam na saúde pública como os Agentes de Combate às Endemias, representam um população com escassos estudos, ausência de monitoramento da exposição e de exames periódicos, ausência de notificação compulsória de intoxicações e acidentes de trabalho, acompanhados de descontinuidade da história de ocupação e exposição, pelas mudanças dos programas e campanhas que modificaram os vínculos dos trabalhos, entre o remanejamento funcional das instâncias de gestões dos governos federal para os municipais. Outra questão refere-se à nomenclatura e cargo, que somente em 2016 (BRASILb, 2016), com a criação do código na Classificação Brasileira de Ocupações (CBO) de Agentes de Combate às Endemias (ACE) pelo Ministério do Trabalho e Emprego (MTE) foi determinado o registro no CNAE dos ACE, conforme código CBO 5151-40 - Agente de Combate às Endemias, estabelecido pelo Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), em substituição ao código provisório anterior da CBO nº 5151-F1. Esses fatores contribuíram para dificultar registros e invisibilizar a história de exposição desses trabalhadores e a insuficiência de registros e conhecimento sobre a extensão da carga química de exposição ocupacional e a dimensão dos danos à saúde, decorrentes do uso intensivo de agrotóxicos.

Em relação aos ACE do Rio de Janeiro, esta situação de invisibilidade é ainda maior que os demais estados do país, uma vez que as instituições de saúde, responsável pelo monitoramento das intoxicações tóxicas não aderiram ao compromisso de se integrarem ao Sistema Datatox para registro dessas informações.

Além das lacunas de conhecimento em relação as intoxicações agudas e crônicas e seus registros nos sistemas de informações para monitoramento da exposição e prevenção em saúde, persistem desconhecimento sobre múltipla exposição e seus efeitos sistêmicos, os mecanismos que envolvem os danos à saúde, os métodos de investigação e a dimensão dos efeitos à saúde durante sua vida laboral dos ACE.

Diante disso, esta tese foi desenvolvida com o intuito de contribuir para o conhecimento os estudos com as seguintes metodologias distintas: - A construção das redes de interação foi realizada utilizando GeneMANIA para DEGs de benzeno e STRING para DEGs de *malathion*, com análise sistemática de genes associados usando mineração de

texto, seguida pela identificação de genes e vias essenciais por anotação funcional; estudo descritivo transversal sobre características sociodemográficas e ocupacionais associadas a qualidade do sono, avaliada pelo Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e avaliação do ciclo atividade-reposo e os efeitos moduladores do sistêmicos utilizando o actígrafo ActTrust.

Os estudos corroboram com a literatura, demonstrando a partir da abordagem em redes complexas da medicina de rede que é possível compreender como as exposições químicas ambientais afetam a função das células humanas, proporcionando melhores análises sobre os mecanismos que as envolvem. Enfatizamos papéis centrais desempenhados por vários genes hub importantes, como proteínas das famílias IL8, KLF, JUN e SERTAD1 obtidas por exposição ao benzeno, enquanto HRAS e STAT3 são hubs para exposição ao *malathion*. Genes e proteínas esses que estão ligados ao processo inflamatório do desenvolvimento do câncer e que por sua vez é associado aos distúrbios do sono (IRWIN, OLMSTEAD and CARROL, 2016)

Embora os resultados da rede apoiem a literatura sobre plausibilidade de genes hub como potenciais biomarcadores, estudos adicionais de validação são necessários para confirmar essa hipótese. Dado que as abordagens da biologia de sistemas para prever e caracterizar genes hubs são recentes.

Tendo em vista o caráter multifatorial do processo de trabalho em expostos aos agrotóxicos e alterações do sono, esta tese descreveu algumas características sociodemográficas e ocupacionais da população do estudo. Com isso, foi confirmada a relação entre má qualidade do sono e sexo, uma vez que maior parte das mulheres apresentaram pior qualidade do sono e maior prevalência de doenças crônicas e alterações psíquicas que também estão podem estar relacionadas com distúrbios do sono.

Este estudo corrobora com a literatura existente, e o artigo dessa tese mostrou que o sexo e tabagismo se associam com as alterações do sono. E que a eficiência do sono de acordo com média ponderada por grupo ocupacional foi melhor para os trabalhadores que não tinham contato com agrotóxicos na atividade atual. Portanto, essas características sociodemográficas e ocupacionais devem ser consideradas nos estudos que abordam a influência de fatores ambientais e trabalhadores do Combate de Vetores.

Em trabalhadores ACE, a pior qualidade do sono e parâmetros da actimetria (Variabilidade interdiária e tempo total de sono) estão correlacionadas com pior modulação autonômica do sistema endócrino, apesar dos exames dentro da faixa de normalidade.

Apesar dos valores para estabilidade e variabilidade Interdiária, assim como o de

leucócitos e dos demais exames, serem subclínicos (o que ocorre quando há uma discreta diminuição, porém, suas concentrações encontram-se dentro da faixa de normalidade), esses valores evidenciam a importância e necessidade da realização de exames periódicos para avaliação das condições de saúde e a série histórica dos exames para o monitoramento dos trabalhadores ao longo do período de trabalho.

As limitações desse estudo referem-se ao tamanho da amostra da população da tese que foi formada por amostra de conveniência, devido ao acesso restrito durante o período de pandemia do coronavírus. Ainda, em relação a pandemia: o estado de distanciamento e isolamento social, se deu no início do projeto e conta disso, muitos reagentes venceram e algumas análises foram canceladas. Também, por esta se caracterizar em uma população com pouca variabilidade, devido todos estarem submetidos a um contrato de trabalho, com atividades prescritas complementares, com padrão temporal influenciado pela carga horária de trabalho, apesar da heterogeneidade em relação as questões de saúde, níveis de exposição e condições de vida.

Por outro lado, apesar dessas limitações, esta tese apresentou contribuições significativas, principalmente pela inclusão de uma população pouco estudada e a utilização de metodologias distintas e complementares para compreender as exposições e seus impactos à saúde dos ACE no exercício de suas atividades na saúde pública.

Também, destacar que os resultados dos exames com valores compatíveis com alterações subclínicas sinalizam para importância de realização de periódicos para avaliação das condições de clínicas de saúde e realização de série histórica dos exames para fins de monitoramento individual dos trabalhadores ao longo do período de trabalho, bem como, para alertas de potenciais eventos sentinela de fatores de riscos ambientais. Isso é relevante, especialmente pelas características dessa população e do processo de trabalho em um ambiente de silenciamento das informações, insuficiência de monitoramento das exposições e de incerteza científica dos danos relacionados a múltiplas exposições e/ou exposições cumulativas ao longo da história ocupacional. Reafirma-se, também, que análises embasadas apenas no estabelecimento de índices de exposição seguros, ou limite de exposição não são adequadas para substâncias cancerígenas como os agrotóxicos e seus efeitos à saúde, que devem considerar a relação de tempo entre a exposição e o efeito (latência), que podem levar muitos anos após a exposição para ocorrer. Inclusive, a ACGIH (2008), apesar de recomendar a utilização dos Limites de exposição (TLVs[®]), reconhece que existirá variação considerável no nível de resposta biológica a uma determinada substância química, independente da concentração no ar. E que os TLVs[®] não representam

uma linha de separação entre um ambiente de trabalho saudável e não saudável, ou um ponto no qual ocorrerá um dano à saúde. Consequentemente, eles não protegerão adequadamente todos os trabalhadores.

Importante frisar que não existe exposição segura para compostos cancerígenos, uma vez que não se pode aceitar uma determinada dose como limite seguro de exposição nos processos de ambiente de trabalho (LARENTIS *et al.*, 2022). Portanto, para esse tipo de situação recomenda-se a adoção do princípio da precaução como ação ética para as bases de uma proposta de vigilância preditiva da exposição nos ambientes de trabalho, mediante ações de fortalecimento da participação dos trabalhadores e das políticas públicas de proteção da saúde dos trabalhadores.

REFERÊNCIAS

- ACHERMANN, P.; BORBÉLY, A. A. Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *In: KRYGER, M. H.; ROTH, T.; DEMENT, W. C. (org.). Principles and practice of sleep medicine*. Sixth edition ed. Philadelphia, PA: Elsevier, p. 377–387, 2017.
- AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNAMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS (ACGIH). Threshold Limits Values and Biological Exposure. Limites de Exposição (TLVs) para Substâncias Químicas e Agentes Físicos e Índices Biológicos de Exposição (BELs). Versão para o Português pela Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais - ABHO, São Paulo, SP, 2008.
- AUGUSTO, L. G.; *et al.* Programa de erradicação do *Aedes aegypti*: inócuo e perigoso (e ainda perdulário). **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 876–876, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1998000400031>. Acesso em: 5 fev. 2020.
- AUGUSTO, L. G. *et al.* Saúde, Ambiente e Sustentabilidade: O caso do uso de inseticidas para controle de endemias e pragas urbanas. *In: CARNEIRO, F. F.; et al. (org.). Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde*. Rio de Janeiro: São Paulo: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; Expressão Popular, 2015.
- AXELSSON, J.; *et al.* Effects of Sustained Sleep Restriction on Mitogen-Stimulated Cytokines, Chemokines and T Helper 1/ T Helper 2 Balance in Humans. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 12, p. e82291, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082291>. Acesso em: 22 jun. 2022.
- AYAS N. T.; *et al.* A Prospective Study of Self-Reported Sleep Duration and Incident Diabetes in Women. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 380–384, 2003a. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diacare.26.2.380>. Acesso em: 12 jan. 2022.
- AYAS N. T.; *et al.* A Prospective Study of Sleep Duration and Coronary Heart Disease in Women. **Archives of Internal Medicine**, [s. l.], v. 163, n. 2, p. 205, 2003b. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/archinte.163.2.205>. Acesso em: 15 jan. 2022.
- AZEVEDO M. F. A.; MEYER A. Tremor essencial em guardas de endemias expostos a agrotóxicos: estudo caso-controle. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 33, n. 8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0102-311x00194915>. Acesso em: 19 set. 2019.
- BAJGAR, J. Laboratory examination in nerve agent intoxication. **Acta Medica (Hradec Kralove, Czech Republic)**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 89–96, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.14712/18059694.2014.15>. Acesso em 21 jul. 2020.
- BERTALANFFY, L. **Teoria geral dos sistemas**: fundamentos, desenvolvimento e aplicações. Petropolis: Vozes, 2008.
- BESEDOVSKY, L.; LANGE, T.; BORN, J. Sleep and immune function. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, [s. l.], v. 463, n. 1, p. 121–137, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00424-011-1044-0>. Acesso em : 20 out. 2021.
- BESEDOVSKY, L.; LANGE, T.; HAACK, M. The Sleep-Immune Crosstalk in Health and Disease. **Physiological Reviews**, [s. l.], v. 99, n. 3, p. 1325–1380, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2018>. Acesso em: 28 mar. 2020.

BOLLINGER, T.; *et al.* Sleep-dependent activity of T cells and regulatory T cells. **Clinical & Experimental Immunology**, [s. l.], v. 155, n. 2, p. 231–238, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03822.x>. Acesso em 05 jan. 2022.

BORBÉLY, A. A. A two process model of sleep regulation. **Human Neurobiology**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 195–204, 1982.

BRASIL; Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Saúde Ambiental, do Trabalhador e Vigilância das Emergências em Saúde Pública. **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias**. Volume 1: Arboviroses Transmitidas pelo *Aedes aegypti*. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

BRASILb. Ministério da Saúde. Portaria nº 535 de 30 de março de 2016. Revisa o quantitativo máximo de Agentes de Combate às Endemias passível de contratação com o auxílio da assistência financeira complementar da União, considerando os parâmetros e diretrizes estabelecidos no Decreto nº 8.474, de 22 de junho de 2015 e na Portaria nº 1.025/GM/MS, de 21 de julho de 2015. Disponível: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt0535_30_03_2016.html. Acesso: 26 set. 2022.

CADASTRO NACIONAL DE ESTABELECIMENTOS DE SAÚDE (CNES). 2020. Disponível em: http://cnes2.datasus.gov.br/Mod_Ind_Profissional_com_CBO.asp. Acesso em: 20 jul. 2020.

CARNEIRO, F.F.; *et al.* (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Parte 1 - Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Saúde. Rio de Janeiro, World Nutrition - Rio 2012.

CARNEIRO, F. F.; *et al.* (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: São Paulo: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; Expressão Popular, 2015.

CENTRO DE ESTUDOS DA SAÚDE DO TRABALHADOR E ECOLOGIA HUMANA (CESTEH). Projeto realiza devolutiva aos trabalhadores de endemias. Saúde & Trabalho Mata Mosquitos: Estudo do Impacto à Saúde de Agentes de Combate às Endemias – RJ, Ano IV - 04 - Agosto/2021. Disponível em: http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/informativo_ano4_03_08_final.pdf. Acesso em: 04 ago. 2021.

CHAO, S. Y. Graph Theory and Analysis of Biological Data in Computational Biology. *In*: JAYANTHAKUMARAN, K (org.). **Advanced Technologies**. InTech, 2009. E-book. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/advanced-technologies/graph-theory-and-analysis-of-biological-data-in-computational-biology>. Acesso em: 06 set. 2019.

COLEONE, A. C. **Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no controle da dengue**: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental. 2014. Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2014.

DIEKELMANN, S.; BORN, J. The memory function of sleep. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 114–126, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrn2762>. Acesso em: 20 mar. 2020.

DIJK, D. J.; *et al.* Variation of electroencephalographic activity during non-rapid eye movement and rapid eye movement sleep with phase of circadian melatonin rhythm in humans. **The Journal of Physiology**. v. 505, n. 3, p. 851–858, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1997.851ba.x>. Acesso em: 15 jun. 2021.

DUFFY, J. F.; *et al.* Later endogenous circadian temperature nadir relative to an earlier wake time in older people. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 275, n. 5, p. R1478–R1487, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.275.5.R1478>. Acesso em: 20 jan. 2022.

GONNISSEN, H. K. J.; HULSHOF, T.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. Chronobiology, endocrinology, and energy- and food-reward homeostasis: Circadian misalignment and metabolic disorders. **Obesity Reviews**. v. 14, n. 5, p. 405–416, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/obr.12019>. Acesso em 25 mar. 2022.

GUYTON, K. Z.; *et al.* International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group, IARC, Lyon, France. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. **Lancet Oncology**. v. 16, n. 5, p. 490-491, 2015. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70134-8. Acesso em: 22 fev. 2022.

HOLFS, D. B.; *et al.* (org.). **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias**. 1. ed. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2019.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Some Organophosphate Insecticides and Herbicides**. Lyon, France, 2017.

IRWIN, M.R. Sleep Deprivation and Activation of Morning Levels of Cellular and Genomic Markers of Inflammation. **Archives of Internal Medicine**. v. 166, n. 16, p. 1756, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/archinte.166.16.1756>. Acesso em 16 abr. 2022.

IRWIN, M.R.; OLMSTEAD, R.; CARROLL, J. E. Sleep Disturbance, Sleep Duration, and Inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies and Experimental Sleep Deprivation. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 80, n. 1, p. 40–52, 2016.

JIANGPING, et al. Relationship between cumulative exposure to pesticides and sleep disorders among greenhouse vegetable farmers. **BMC Public Health**. V. 19, n. 1, p. 373, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6712-6>. Acesso em: 17 abr. 2022.

KHOLODENKO, B. N.; HANCOCK, J. F.; KOLCH, W. Signalling ballet in space and time. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. v. 11, n. 6, p. 414–426, 2010.

LARENTIS, A. L.; *et al.* Adoecimento e mortes de agentes de combate às endemias no estado do estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos: crítica ao processo de trabalho e construção coletiva de estratégias de enfrentamento. In: PINA, J. A. *et al.* (Orgs.). **Saber Operário, Construção de Conhecimento e a Luta dos Trabalhadores pela Saúde**. São Paulo: Hucitec (Saúde em Debate, 331), 2022

LASSELIN, J.; *et al.* Effect of long-term sleep restriction and subsequent recovery sleep on the diurnal rhythms of white blood cell subpopulations. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 47, p. 93–99, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.10.004>. Acesso em: 21 abr. 2021.

LAUGSAND, L. E.; *et al.* Insomnia Symptoms and Risk for Unintentional Fatal Injuries—The HUNT Study. **SLEEP**. v. 37, n. 11, p. 1777–1786, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5665/sleep.4170>. Acesso em: 22 abr. 2021.

LI, J.; *et al.* Relationship between cumulative exposure to pesticides and sleep disorders among greenhouse vegetable farmers. **BMC Public Health**. v. 19, n. 1, p. 373, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6712-6>. Acesso em: 21 abr. 2021

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil**: um guia para ação em defesa da vida. 2a edição ed. Rio de Janeiro: Rede Brasileira de Justiça Ambiental: Articulação Nacional de Agroecologia, 2012.

MA'AYAN, A.; *et al.* Lean Big Data integration in systems biology and systems pharmacology. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 35, n. 9, p. 450–460, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.07.001>. Acesso em: 12 fev. 2019

MARDINOGLU, A.; *et al.* Systems biology in hepatology: approaches and applications. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. v. 15, n. 6, p. 365–377, 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Registro de Agrotóxicos e Afins**. 2022. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. Acesso em: 05 out. 2022.

MEIRELLES, L. C.; *et al.* Agentes de combate às endemias: uma população em risco no enfrentamento da covid-19. *In*: REIS, L. G.; PORTELA, M. C. E.; LIMA, S. M. L. (Org). **Instant Book COVID-19** – Desafios para organização e repercussões no sistema e serviços de saúde. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz/SciELO Livros. 2022.

OGA, S.; *et al.* **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 2008.

PARMEGGIANI, P. L. Thermoregulation and sleep. **Frontiers in Bioscience**. v. 8, n. 6, p. s557-567, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.2741/1054>. Acesso em: 19 abr. 2021.

PATEL, S. R.; *et al.* Sleep duration and biomarkers of inflammation. **SLEEP**. v. 32, n. 2, p. 200–204, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/sleep/32.2.200>. Acesso em: 26 jul. 2022.

PATEL, S. R.; *et al.* A Prospective Study of Sleep Duration and Pneumonia Risk in Women. **SLEEP**. v. 35, n. 1, p. 97–101, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5665/sleep.1594>. Acesso em: 26 jun. 2022.

PAVLOPOULOS, G. A.; *et al.* Using graph theory to analyze biological networks. **BioData Mining**. v. 4, n. 1, p. 10, 2011.

RANGARAJ, V. R.; KNUTSON, K. L. Association between sleep deficiency and cardiometabolic disease: implications for health disparities. **Sleep Medicine**. v. 18, p. 19–35, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2015.02.535>. Acesso em 22 jan. 2022.

RAY, D. E.; RICHARDS, P. G. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. **Toxicology Letters**. v. 120, n. 1–3, p. 343–351, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(01\)00266-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(01)00266-1). Acesso em: 22 out. 2019.

RICO-ROSILLO, M. G.; VEGA-ROBLEDO, G. B. Sueño y sistema inmune. **Revista Alergia México**. v. 65, n. 2, p. 160, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.29262/ram.v65i2.359>. Acesso em: 22 jun. 2019.

ROEHRS, T.; ROTH, T.; The Sleep–Wake Cycle: An Overview. *In*: MURILLO-RODRÍGUEZ, E. **The Behavioral, Molecular, Pharmacological, and Clinical Basis of the Sleep-Wake Cycle**. Elsevier, p. 1–16, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816430-3.00001-4>. Acesso em: 14 jul. 2020.

ROTTER, S.; *et al.* Overview on legislation and scientific approaches for risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: the potential EuroMix contribution. **Critical Reviews in Toxicology**. v. 48, n. 9, p. 796-814, 2019. doi: 10.1080/10408444.2018.1541964. Acesso em: dez. 2019.

SANTIAGO, J. A.; SCHERZER, C. R.; POTASHKIN, J. A. Network Analysis Identifies SOD2 mRNA as a Potential Biomarker for Parkinson’s Disease. **PLoS ONE**. v. 9, n. 10, p. e109042, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109042>. Acesso em: 02 fev. 2022.

SILVA, J. M.; *et al.* Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & Saúde Coletiva**. v. 10, n. 4, p. 891–903, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232005000400013>. Acesso em: 22 jul. 2020.

SILVEIRA, G. R. **Caracterização dos agrotóxicos utilizados nas ações de controle vetorial e nocividades para a saúde dos trabalhadores**. 2020. Dissertação de Mestrado - ENSP/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A DEFESA AGRÍCOLA (SINDAG). **Informações do setor**. 2003. Disponível em: <http://www.sindag.com.br/>. Acesso em: 11 dez. 2019.

SOARES, A. M.; LARENTIS, A. L.; MEIRELLES, L. C. Mortes de agentes de combate às endemias e necessidade de banimento de produtos cancerígenos no trabalho: denúncias marcam oficina no Cesteh. **WebCesteh**, 2018 Disponível em: <http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/noticias/mortes-de-agentes-de-combate-endemias-e-necessidade-de-banimento-de-produtos-cancerigenos>. Acesso em 22 nov. 2018.

SPIEGEL, K.; LEPROULT, R.; VAN-CAUTER, E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. **The Lancet**. v. 354, n. 9188, p. 1435–1439, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)01376-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)01376-8). Acesso em: 15 abr. 2022

SZKLARCZYK, D.; *et al.* The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible. **Nucleic Acids Research**. v. 45, n. D1, p. D362–D368, 2017.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2017. Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/summary/>. Acesso em: 14 out 2021.

WALKER, M. (org.). **Por que nós dormimos: a nova ciência do sono e do sonho**. 1 edição ed. Rio de Janeiro – RJ: EDITORA INTRÍNSECA LTDA, 2018.

WANG, Y. Association between long-term exposure to ambient air pollutants and excessive daytime sleepiness in Chinese rural population: The Henan Rural Cohort Study. **Chemosphere**, n. 248, 126103, 2020.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). **Assessment of combined exposures to multiple chemicals**: Report of a WHO/IPCS international workshop on aggregated/cumulative risk assessment. 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44113>. Acesso em: 12 jun. 2021.

**APÊNDICE – CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS DE TRABALHADORES
DE ACORDO COM ATIVIDADE ATUAL**

Exposição Presumida aos agrotóxicos	Grupo de Atividades Atual	Classificação do Grupo por tipo de atividade
Alta Exposição	atividade_atual1 = Aplicação de agrotóxicos (UBV, nebulizador, bomba costal). atividade_atual2 = Preparo do Produto. atividade_atual3 = Agente de campo atividade_atual4 = Agente de campo + supervisão/coordenação atividade_atual5 = Combate a roedores e/ou moluscos.	Grupo 1. Aplicação e Preparo
Médio Exposição	atividade_atual6 = Controle de equipamentos e produtos. atividade_atual7 = Almojarifado. atividade_atual8 = Abastecedor. atividade_atual9 = Motorista. atividade_atual10 = Operador. atividade_atual11 = Carga / descarga/ transporte. atividade_atual12 = Mecânico de bomba. atividade_atual13 = Agente de campo + Operador	Grupo 2. Manuseio de Equipamento e Produtos
Baixa/sem Exposição	atividade_atual14 = Atividades administrativas. atividade_atual15 = Supervisor/Coordenador. atividade_atual16 = Informação, educação e comunicação (IEC). atividade_atual17 = Agente de campo + informação atividade_atual18 = Agente de campo + tecnico laboratorio atividade_atual19 = Agente de campo +supervisor atividade_atual20 = Agente de campo +vacina antirábica atividade_atual21 = Agente de campo +supervisor atividade_atual22 = Vigilância epidemiologica atividade_atual23 = Saúde do Trabalhador atividade_atual24 = Sindicalista atividade_atual25 = Entomologia atividade_atual26 = Agente de campo=reconhecimento geográfico atividade_atual27 =Visitador domiciliar atividade_atual28 = Aposentado/demitido	Grupo 3. Sem contato produto

ANEXO A - QUESTIONÁRIO DO ÍNDICE DE QUALIDADE DO SONO (PSQI)

UTILIZADO

Iniciais do paciente _____ Número do actímetro _____ Data da coleta ____/____/____

ÍNDICE DE QUALIDADE DE SONO				
(1) Durante o último mês, quando você geralmente foi para a cama à noite? Hora usual de deitar: ____ h ____ min				
(2) Durante o último mês, quanto tempo (em minutos) você geralmente levou para dormir à noite? ____ min				
(3) Durante o último mês, quando você geralmente levantou de manhã? Hora usual de levantar: ____ h ____ min				
(4) Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (Este pode ser diferente do número de horas que você ficou na cama). Horas de sono por noite: ____ h ____ min				
(5) Durante o último mês, com que frequência você teve dificuldade de dormir porque você...				
	Nenhuma no último mês	Menos de 1 vez/ semana	1 ou 2 vezes/ semana	3 ou mais vezes/ semana
a) Não conseguiu adormecer em até 30 minutos				
b) Acordou no meio da noite ou de manhã cedo				
c) Precisou levantar para ir ao banheiro				
d) Não conseguiu respirar confortavelmente				
e) Tossiu ou roncou forte				
f) Sentiu muito frio				
g) Sentiu muito calor				
h) Teve sonhos ruins				
i) Teve dor				
j) Outra(s) razão(ões), por favor descreva:				
k) Teve dificuldade para dormir devido a essa razão?				
(6) Durante o último mês, como você classificaria a qualidade do seu sono de uma maneira geral?				
<input type="checkbox"/> Muito boa <input type="checkbox"/> Boa <input type="checkbox"/> Ruim <input type="checkbox"/> Muito ruim				
(7) Durante o último mês, com que frequência você tomou medicamento (prescrito ou "por conta própria") para lhe ajudar a dormir?				
<input type="checkbox"/> Nenhuma no último mês <input type="checkbox"/> Menos de 1 vez/ semana <input type="checkbox"/> 1 ou 2 vezes/ semana <input type="checkbox"/> 3 ou mais vezes/ semana				
(8) No último mês, com que frequência você teve dificuldade de ficar acordado enquanto dirigia, comia ou participava de uma atividade social (festa, reunião de amigos, trabalho, estudo)?				
<input type="checkbox"/> Nenhuma no último mês <input type="checkbox"/> Menos de 1 vez/ semana <input type="checkbox"/> 1 ou 2 vezes/ semana <input type="checkbox"/> 3 ou mais vezes/ semana				
(9) Durante o último mês, quão problemático foi para você manter o entusiasmo (ânimo) para fazer as coisas (suas atividades habituais)?				
<input type="checkbox"/> Nenhuma dificuldade <input type="checkbox"/> Um problema leve <input type="checkbox"/> Um problema razoável <input type="checkbox"/> Um grande problema				
(10) Qual a sua chance de cochilar ou pestanejar ("pescar") nas seguintes situações:				
	NUNCA	LEVE	MODERADA	ALTA
(a) Sentado e lendo				
(b) Vendo TV				
(c) Sentado em um espaço público, como um teatro ou numa reunião				
(d) Como passageiro em um carro				
(e) Deitado para descansar à tarde, quando as circunstâncias permitem				
(f) Sentado e falando com alguém				
(g) Sentado depois de um almoço sem bebida alcoólica				
(h) Quando dirigindo e o trânsito pára por alguns minutos				

Matutinitude-Vespertinidade		
(11)	Considerando que você tem que trabalhar por 8 horas seguidas e está totalmente livre para organizar o seu tempo, que horário você preferiria se levantar?	<input type="checkbox"/> Antes da 6:30 <input type="checkbox"/> 6:30-7:29 <input type="checkbox"/> 7:30-8:29 <input type="checkbox"/> 8:30 ou mais
(12)	Considerando que você tem que trabalhar 8 horas seguidas e está totalmente livre para organizar seu tempo, quando você preferiria ir para a cama?	<input type="checkbox"/> Antes da 21:00 <input type="checkbox"/> 21:00-21:59 <input type="checkbox"/> 22:00-22:59 <input type="checkbox"/> 23:00 ou mais
(13)	Qual seria a sua dificuldade caso tivesse que ir para a cama às 21:00 horas?	<input type="checkbox"/> Muito difícil - ficaria acordado por um longo tempo <input type="checkbox"/> Pouco difícil - ficaria acordado por algum tempo <input type="checkbox"/> Pouco fácil - ficaria acordado por pouco tempo <input type="checkbox"/> Fácil - adormeceria praticamente no mesmo instante
(14)	Se você sempre tivesse que levantar às 6:00h, como você acha que seria?	<input type="checkbox"/> Muito difícil e desagradável <input type="checkbox"/> Pouco difícil e desagradável <input type="checkbox"/> Um pouco desagradável mas não um grande problema <input type="checkbox"/> Fácil - nenhum problema
(15)	Quando você começa a sentir os primeiros sinais de cansaço e necessidade de dormir?	<input type="checkbox"/> Antes da 21:00 <input type="checkbox"/> 21:00-21:59 <input type="checkbox"/> 22:00-22:59 <input type="checkbox"/> 23:00 ou mais
(16)	Quanto tempo você costuma levar para "recuperar suas energias" de manhã após levantar de uma noite de sono?	<input type="checkbox"/> 0-10 min <input type="checkbox"/> 10-20 min <input type="checkbox"/> 20-40 min <input type="checkbox"/> Mais de 40 min
(17)	Por favor, indique até que ponto você é um indivíduo ativamente matutino ou vespertino!	<input type="checkbox"/> Definitivamente ativo de manhã (alerta de manhã e cansado à tarde) <input type="checkbox"/> Um pouco ativo de manhã. <input type="checkbox"/> Um pouco ativo à noite (manhã cansado e alerta à tarde) <input type="checkbox"/> Definitivamente ativo à noite (Cansado pelo manhã e alerta à tarde)

Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh - Instruções para pontuação

Componente 1: Qualidade subjetiva do sono:

Examine a questão 6 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Resposta	Pontuação
muito boa	0
boa	1
ruim	2
muito ruim	3

Pontuação do **componente 1**:

Componente 2: Latência do sono:

1.Examine a questão 2 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Resposta	Pontuação
----------	-----------

< ou = 15 minutos	0	
16-30 minutos	1	
31-60 minutos	2	Pontuação da questão 2: <input type="checkbox"/>
> 60 minutos	3	

2. Examine a questão 5a e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Resposta	Pontuação	
nenhuma vez	0	
menos de 1 vez/semana	1	
1 a 2 vezes/semana	2	
3 vezes/semana ou mais	3	Pontuação da questão 5a: <input type="checkbox"/>

3. Some a pontuação da questão 2 e da questão 5a: Soma de 2 e 5a:

4. Atribua a pontuação do componente 2 da seguinte maneira:

Soma de 2 e 5a	Pontuação do componente 2	
0	0	
1-2	1	
3-4	2	Pontuação do componente 2 : <input type="checkbox"/>
5-6	3	

Componente 3: Duração do sono:

1. Examine a questão 4 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Resposta	Pontuação	
> 7 horas	0	
6- 7 horas	1	
5-<6 horas	2	Pontuação do componente 3 : <input type="checkbox"/>
< 5 horas	3	

Componente 4: Eficiência habitual do sono:

1. Examine a questão 2 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

(1) Número de horas dormidas (questão 4) : _____

(2) Número de horas no leito: {horário de levantar (questão3) - horário de deitar (questão1)}: _____

(3) Eficiência do sono: {nº de horas dormidas / nº de horas no leito} x 100 = eficiência do sono (%)

$$\left\{ \frac{\text{_____}}{\text{_____}} \right\} \times 100 = \text{_____} \%$$

(4) Atribua a pontuação do componente 4 da seguinte maneira:

Eficiência do sono (%)	Pontuação	
> 85 %	0	
75-84 %	1	
65-74 %	2	Pontuação do componente 4 : <input type="checkbox"/>
< 65 %	3	

Componente 5: Distúrbios do sono:

1. Examine as questões de 5b a 5j e atribua a pontuação para cada questão, da seguinte maneira:

Resposta	Pontuação	Pontuação de cada questão:	
nenhuma vez	0	5b: _____	5c: _____
menos de 1 vez/semana	1	5d: _____	5e: _____
1 a 2 vezes/semana	2	5f: _____	5g: _____
3 vezes/semana ou mais	3	5h: _____	5i: _____

5j: _____

2. Some a pontuação de 5b até 5j:

3. Atribua a pontuação do componente 5 da seguinte maneira:

Soma de 5b a 5j0
1-9
10-18
19-27**Pontuação**0
1
2
3Pontuação do **componente 5**: **Componente 6: Uso de medicação para dormir:**

1. Examine a questão 7 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Respostanenhuma vez
< 1 vez / semana
1 a 2 vezes / semana
6: 3 vezes / semana ou +**Pontuação**0
1
2
3Pontuação do **componente****Componente 7: Sonolência diurna e distúrbios durante o dia:**

1. Examine a questão 8 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Respostanenhuma vez
< 1 vez / semana
1 a 2 vezes / semana
3 vezes / semana ou +**Pontuação**0
1
2
3Pontuação da questão 8:

2. Examine a questão 9 e atribua a pontuação da seguinte maneira:

Respostanenhuma
pequena
moderada
muita**Pontuação**0
1
2
3Pontuação da questão 9: 3. Some a pontuação das questões 8 e 9:

4. Atribua a pontuação do componente 7 da seguinte maneira:

Soma de 8 e 90
1-2
3-4
5-6**Pontuação**0
1
2
3Pontuação do **componente 7**: **Soma dos componentes de 1 a 7 = pontuação global do PSQI:**

**ANEXO B - MATERIAL DE PRODUÇÕES E FORMAÇÃO DURANTE O
DOUTORADO**

Relacionados ao projeto	
2° Autor (2020) Nota técnica: Agentes de combate as endemias, uma população em risco frente à COVID-19.	http://www.sintsauderj.org.br/noticia/covid19-fiocruz-divulga-nota-tecnica-contratrabalho-de-campo-de-agente-de-combate-as-endemias
4 Boletins informativos do Projeto Guardas de Endemias (Boletim 1, 2018; Boletim 2, 2019; Boletim 3, 2020; Boletim 4, 2021)	http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/boletins-informativos-do-projeto-guardas-de-endemias
Apresentação dos dados do questionário aos trabalhadores em uma live em 11/05/2021 e no 'Encontros do Cesteh', em 11/06/2021	http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/informativo_ano4_03_08_final.pdf
5° Autor (2021) Cap livro: Adoecimento e mortes de combate às endemias no estado do Rio de Janeiro expostos a agrotóxicos: Crítica ao processo de trabalho e construção coletiva de estratégias de enfrentamento	ISBN: 978-85-8404-240-1
3° Autor (2022) Cap livro: Agentes de combate às endemias: uma população em risco no enfrentamento da covid-19	DOI: 10.7476/9786557081587
Aula de Epigenética, ministrada na disciplina TOXICOGENÔMICA (ENSP.90.184.1). 2018	
Professor colaborador na aula 'Indicadores de genotoxicidade', da disciplina: Biologia molecular aplicada a pesquisa ambiental e ao diagnóstico clínico (ensp 90.171.1). 2019	
Aula 6) 21/10/2021, no curso de formação para agentes de combate as endemias: Alterações de sono, desregulação endócrina e imunologia Professore(a)s: Liliane Teixeira e Marcus Vinícius Corrêa	
Co-autoria na elaboração de material e relatórios de Atividades Parcial e/ou Final para a EPP - Escritório de Projetos da Presidência - Fiocruz (Etapa: Meta 3 e 4; 26 de agosto de 2020). &	

03º Relatório Técnico de Atividades - Escritório de Projetos ENSP/Fiocruz (Metas 3 e 4, 26 de agosto de 2020).	
Resumos apresentados em congresso como primeiro autor	
Congress of the International Commission on Occupational Health (ICOH 2018) 1500; Prediction and characterisation of biomarker network for benzene exposure	DOI: http://dx.doi.org/10.1136/oemed-2018-ICOHabstracts.1174
Latin American Congress on Clinical and Laboratorial Toxicology (Toxilatin 2018) Evaluation of environmental, oxidative stress, genotoxic and epigenetic biomarkers related to occupational exposure to low doses of benzene in filling station workers	
Latin American Symposium on Chronobiology (LASC 2021): Sleep quality of Endemic Workers in Rio de Janeiro, Brazil.	https://lasc2021.org/poster/sleep-quality-of-endemic-workers-in-rio-de-janeiro-brazil/
International Symposium on Epidemiology in Occupational Health (EPICOH 2021): P-431 Health and COVID: the work of Endemic Workers during the COVID-19 pandemic in Rio de Janeiro, Brazil.	DOI: http://dx.doi.org/10.1136/OEM-2021-EPI.323
Resumos em congresso como co-autor	
4º Autor Latin American Congress on Clinical and Laboratorial Toxicology (Toxilatin 2018) Genotoxic effects in environmentally exposed workers to benzene	
International Symposium on Epidemiology in Occupational Health (EPICOH 2021):	
4º Autor P-432 Chemical exposure to pesticides (agrotoxics) of endemic workers in the state of Rio de Janeiro, Brazil	DOI: http://dx.doi.org/10.1136/OEM-2021-EPI.324
5º Autor P-440 Chronic exposure to pesticides (agrotoxics) by endemic workers in the state and municipality of Rio de Janeiro, Brazil.	DOI: http://dx.doi.org/10.1136/OEM-2021-EPI.329
3º Autor P-436 'Studies of Common Mental Disorders of Endemic Workers in the state of Rio de Janeiro, Brasil	DOI: http://dx.doi.org/10.1136/OEM-2021-EPI.327
2º Autor	

P-435 Morbidity and mortality of workers in the vector control of the state of Rio de Janeiro, Brazil	DOI: http://dx.doi.org/10.1136/OEM-2021-EPI.326
2° Autor Contrassenso da política de combate vetorial com uso de agrotóxicos: promoção ou agravos à saúde? 1ª Conferência Latino-Americana de Saúde e Educação ambiental: das mudanças climáticas à qualidade de vida nas cidades (2021)	
Não diretamente relacionado	
1° Autor (2020) Orientações para petroleiros do RS, sobre os testes de COVID-19.	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/41612
5° Autor (2020) Reflexões sobre testes para COVID-19 e o dilema do passaporte da imunidade.	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/48236
5° Autor (2020) Parecer sobre proposta de protocolo de embarque e testagem para COVID-19 nos petroleiros	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/49567
8° Autor (2020) Recomendações e descrições dos padrões de segurança e saúde relacionados ao trabalho na Indústria de Petróleo e Gás para prevenção e o enfrentamento da pandemia pela Covid-19	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/44058
1° Autor (2021) Rede de informações e comunicação sobre a exposição ao SARS-CoV-2 em trabalhadores no Brasil: informe 8	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/49255
4° Autor (2021) Reflexões sobre testes para covid-19 e o dilema do passaporte da imunidade (Atualização 2021)	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/48237
2° Autor (2021) Cap: Vacina anti-covid-19 e imunogenicidade: limites e perspectivas no Brasil	https://www.esserenelmondo.com/pt/direito-vacina-como-medida-essencial-de-combate-A-pandemia-ebook196.php
Rede de informações e comunicação sobre a exposição ao SARS-CoV-2 em trabalhadores no Brasil: informe 8	https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/49255
3° Autor (2019) Environmental Assessment and Evaluation of Oxidative Stress and Genotoxicity Biomarkers Related to Chronic Occupational Exposure to Benzene	DOI: 10.3390/ijerph16122240

5º Autor (2021) Avaliação da exposição a BTEX em postos de revenda de combustíveis no Rio de Janeiro, Brasil, e os riscos à saúde do trabalhador	DOI: 10.1590/0102-311X00351520
Matéria (2019) Artigo científico aborda a exposição ocupacional de frentistas ao Benzeno e seus efeitos a saúde	http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/noticias/artigo-cientifico-aborda-exposicao-ocupacional-de-frentistas-ao-benzeno-e-seus-efeitos
Orientação de TCC de graduação de Juliana Mendonça. O uso de biomarcadores de efeito na avaliação a exposição ambiental e ocupacional ao Benzeno. Defesa em dezembro, 2021.	

ANEXO C - ENTRADA DO QUESTIONÁRIO ONLINE

Agentes de combate às endemias/guardas de endemias: relação entre saúde e trabalho no contexto da pandemia de COVID-19

Olá, queremos saber um pouco mais sobre você!

Esta pesquisa está sendo coordenada por pesquisadores do Centro de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana/Fiocruz, com coparticipação de outras instituições, com o objetivo de analisar a relação entre saúde e o trabalho de agentes de combate às endemias/guardas de endemias no contexto da pandemia de COVID-19.

PARA PARTICIPAR, BASTA TER A IDADE MÍNIMA DE 18 ANOS E TER TRABALHADO NO CONTROLE DE ENDEMIAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos sigilo sobre sua participação.

Todas as questões com asterisco (*) são obrigatórias.



***Obrigatório**

E-mail *

Seu e-mail



<https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfYLyAXj6vTmUQjmKWatrNYVn4e-Ye9MiVu7AqDN-v3SK8-7A/viewform>




Este termo foi elaborado em formato eletrônico, caso você aceite participar, ^{*}deve assinalar "Sim" abaixo:

- Sim, concordo em participar da pesquisa
- Não concordo em participar da pesquisa

Página 1 de 8

Próxima

Limpar formulário

 Nunca envie senhas pelo Formulários Google.

<https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfYLYAXj6vTmUQjmKWatrNYVn4e-Ye9MiVu7AqDN-v3SK8-7A/viewform>