



Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Tese de Doutorado

“A INSEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL: CORRELAÇÃO  
EPIGENÉTICA DO GENE BDNF, STATUS SOCIAL E DE SAÚDE  
EM AGRICULTORES FAMILIARES DE CAFÉ DO CAPARAÓ  
CAPIXABA”

WAGNER MIRANDA BARBOSA

VITÓRIA, 2017

“A INSEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL: CORRELAÇÃO  
EPIGENÉTICA DO GENE BDNF, STATUS SOCIAL E DE SAÚDE  
EM AGRICULTORES FAMILIARES DE CAFÉ DO CAPARAÓ  
CAPIXABA”

WAGNER MIRANDA BARBOSA

Tese de Doutorado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia, da Rede Nordeste de  
Biotecnologia, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Biotecnologia.

Área de Concentração:  
Biotecnologia em Saúde

Orientadora: Prof. Dra. Adriana  
Madeira Alvares da Silva

Vitória, fevereiro de 2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito  
Santo, ES, Brasil)

---

B238i      Barbosa, Wagner Miranda, 1986 -  
            A insegurança alimentar e nutricional: correlação epigenética do gene BDNF,  
            status social e de saúde em agricultores familiares de café do Caparaó Capixaba /  
            Wagner Miranda Barbosa – 2017.  
            98 f. : il.

            Orientador: Adriana Madeiras Alvares da Silva.

            Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Espírito Santo,  
            Centro de Ciências da Saúde.

            1. Repressão Epigenética. 2. Segurança Alimentar e Nutricional. 3. Fator  
            Neurotrófico Derivado do Encéfalo. 4. Metilação. I. Silva, Adriana Madeiras Alvares  
            da. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III.  
            Título.

            CDU: 61

---

“A INSEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL: CORRELAÇÃO  
EPIGENÉTICA DO GENE BDNF, STATUS SOCIAL E DE SAÚDE EM  
AGRICULTORES FAMILIARES DE CAFÉ DO CAPARAÓ CAPIXABA”

WAGNER MIRANDA BARBOSA

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia, da Rede Nordeste de  
Biotecnologia, como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Biotecnologia.

Área de Concentração:  
Biotecnologia em Saúde

Comissão Examinadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Madeira Alvares da Silva  
(Orientadora)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr. Heberth de Paula  
(Titular)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia de Paula  
(Titular)

---

Prof. Dr. João Batista Pavesi Simão  
(Titular)

---

Prof. Dr. Marcelo dos Santos  
(Titular)

Vitória, fevereiro de 2017

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho aos meus amores Flávia, Luíza e Felipe.

À Vó Filhinha (*in memorian*), Vó Maria (*in memorian*) e a Tia Anita (*in memorian*)

## Agradecimentos

À Deus, fonte de toda sabedoria e bondade. Flávia, Luíza e Felipe.

Aos meus pais Olandina e Wenceslau, minhas irmãs e irmãos. À Marília e ao Flávio.

À professora Adriana Madeira, por sempre acreditar ....principalmente no BEM e na construção da PAZ.

Ao GESAN-professor Pedro Kitoco e ao companheiro Alcemi Almeida de Barros, pela luta em favor do Direito Humano a Alimentação Adequada.

Aos professores Waldir Cintra de Jesus Jr e Adilson Vidal Costa, pela valorosa ajuda.

Ao professor José Aires Ventura e Diana Sales, que me oportunizaram a RENORBIO.

Ao Ensino público e gratuito:

Colégio Tiradentes da Polícia Militar de Minas Gerais de Manhuaçu

À Universidade Federal de Ouro Preto

À República Vira Saia

À Universidade Federal de Minas Gerais

À Universidade Federal do Espírito Santo

Ao departamento de Farmácia e Nutrição da UFES.

À Caparaó Júnior (IFES-Alegre), por acreditar e contribuir no nosso trabalho

Ao amigo Carlos César Jorden Almança, parceiro de todas as etapas deste trabalho.

Desde as viagens à Vitória para cursar disciplinas, elaboração dos instrumentos de coletas, das visitas às comunidades rurais e do aprendizado das técnicas de biologia molecular.

À Catarine Conti, pelas inúmeras contribuições.

À professora Taís Soares.

À todos alunos e agregados das equipes de pesquisa e extensão da profa Adriana:

Suzanny Mendes, Aline Borçoi, Leonardo Trivilim, Anderson Archanjo, Diego Camuzzi, Lucas, Gabriele Peterle, Gabriely Assis, Mayara, Joaquim, Juliana Kruger, Juliana Dalbó, Érika Freitas, Júlia Assis, Débora Lumena, Flávia Moraes, Camila David, Letícia Parmanhani, Arícia, Gabriel, Mayra e todos voluntários que contribuíram de alguma forma.

À professora Luciane Daniele Cardoso pelas orientações estatísticas e demais considerações.

Aos membros da banca professores Flávia de Paula, Marcelo Santos, João Batista Pavesi Simão e Heberth de Paula, pelas contribuições

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo – FAPES, pelo aporte financeiro da pesquisa.

## Epígrafe

Podemos não ser capazes de mudar os genes, mas podemos mudar os ambientes que influenciam a forma como os nossos genes são expressos. Podemos mudar o racismo, a discriminação, a desigualdade e contínua desvantagem que estão sob responsabilidade tanto individual quanto coletiva.

**Resumo:**

**Introdução:** A associação entre Insegurança Alimentar e Nutricional (INSAN) e a violação do Direito Humano à Alimentação Adequada (DHAA) já é conhecida. Adicionalmente, a associação entre condições de saúde e trabalho de agricultores familiares e a INSAN tem sido proposta em diversos países, entretanto, o impacto desta associação com a epigenética por meio de estudos de metilação ainda recebe pouca atenção. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é importante para a manutenção das funções cerebrais, porém o estresse favorece a metilação da região promotora do gene BDNF e está associada à depressão. **Objetivo:** Avaliar os fatores determinantes da INSAN, considerando a metilação do éxon I do BDNF e o estilo de vida dos cafeicultores familiares. **Métodos:** Cafeicultores familiares entre 18 e 60 anos de idade, de 22 comunidades rurais, de 11 cidades do Sul do Estado do “Espírito Santo”, sudeste do Brasil, participaram do estudo respondendo a um questionário com aspectos socioeconômicos, de posse e uso da terra, de comportamento, saúde e condições de trabalho. A avaliação da INSAN foi realizada pela Escala Brasileira de Insegurança Alimentar. A metilação do éxon I gene BDNF foi verificada pela Reação em Cadeia da Polimerase Específica para Metilação (MS-PCR). O índice de massa corporal (IMC) e avaliação nutricional bioquímica foram realizados. Modelos de regressão logística foram usados para verificar os fatores associados à INSAN. **Resultados:** Avaliação dos resultados mostrou a prevalência de INSAN e metilação em 23,68% e 39,01%. A ocorrência de INSAN explicada pela metilação do gene BDNF ORa = 5,03 (95% CI 1,98 – 12,83), trabalho extra fora de sua propriedade, ORa = 3,36 (95% CI 1,23 – 9,21), tamanho da terra (hectares) ORa = 0,77 (95% CI 0,67 – 0,90) e número de sintomas e/ou doenças relatados ORa = 1,12 (95% CI 1,04 – 1,20). **Conclusões:** A condição de INSAN dos pequenos cafeicultores, pode ser influenciada pelas condições de vida e pela metilação do BDNF.

**Palavras chave:** Epigenética, Segurança Alimentar e Nutricional, Agricultura Familiar, BDNF, Metilação



**Abstract:**

**Background:** The association between insecurity about food and nutrition (INSAN) and violation of the human right to food (HRFN) is already known. In addition, the association between work on small family farms, poor health conditions, and INSAN has been proposed in several countries. However, the impact of living with INSAN on epigenetics, including the use of methylation studies has received little attention. The brain-derived neurotrophic factor, or BDNF, is important for the maintenance of brain functions, but stress can cause methylation of the promoter region of the BDNF gene, and this epigenetic change is associated with depression. **Objective:** To evaluate factors that might be associated with INSAN, including the methylation of exon I of BDNF and the living conditions of family farmers. **Methods:** Farmers from small family farms, 18 to 60 years of age, from 22 rural communities of 11 cities in the state of South Espirito Santo, southeastern Brazil participated in the study by answering a questionnaire about socioeconomic characteristics, ownership and use of land, behavior, health, and working conditions. The INSAN evaluation was carried out using the Brazilian Food Insecurity Scale. Methylation of exon I of the BDNF gene was examined by methylation-specific PCR. Body mass index (BMI) and biochemical and molecular analyses were performed. Logistic regression models were used to verify factors associated with INSAN. **Results:** The prevalence of INSAN and methylation were 23.68% and 39.01%. The occurrence of INSAN was associated the methylation of the exon I promoter of the BDNF gene, Odds Ratio (ORa) = 5.03 (95% CI 1.98 – 12.83); extra work off one's own property, ORa = 3.36 (95% CI 1.23 – 9.21); land size (hectares), ORa = 0.77 (95% CI 0.67 - 0.90); and number of real-life symptoms and/or diseases, ORa = 1.12 (95% CI 1.04-1.20). **Conclusions:** The occurrence of INSAN in the members of small family farms, correlates with the conditions of a higher methylation rate of BDNF, the need to work outside the home because of low income, smaller size of the property, and greater numbers of diseases/symptoms reports. **Keywords:** Epigenetics, Food Security and Nutrition, Insecurity, Family Agriculture, BDNF, Methylation

## **Lista de Abreviaturas**

INSAN: Insegurança Alimentar e Nutricional;

SAN: Segurança Alimentar e Nutricional;

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

FAO: Organização para Alimentação e Agricultura;

DHAA: Direito Humano à Alimentação Adequada;

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor /Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro;

IMC: Índice de Massa Corporal;

MS-PCR :Reação em Cadeia da Polimerase Específica para Metilação;

PNAD: Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílio;

PPSUS: Projeto para o Sistema Único de Saúde;

EBIA: Escala Brasileira de Insegurança alimentar;

IFES: Instituto Federal do Espírito Santo;

CNS: Conselho Nacional de Saúde;

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido;

OMS: Organização Mundial da Saúde;

IDHM: Índice de Desenvolvimento Humano Municipal;

MDS: Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome;

INCRA: Instituto Nacional de Reforma Agrária

IJNS: Instituto Jonas dos Santos Neves

UFES: Universidade Federal do Espírito Santo

RENORBIO: Rede Nordeste de Biotecnologia

## Sumário

1. Introdução .....	13
2. Revisão da Literatura.....	16
2.1 Brasil Rural .....	16
2.2 Uso de agrotóxicos no Brasil .....	19
2.3 Segurança Alimentar e Nutricional no Brasil .....	20
2.4 O Estresse Aliado a Insegurança Alimentar e Nutricional .....	25
2.5 Epigenética .....	27
2.6 Modulação Epigenética .....	29
2.7 BDNF e Epigenética .....	30
3. Justificativa .....	32
4. Capítulo 01 – Artigo Submetido à “BMC Public Health” .....	33
5. Capítulo 02 – Artigo Submetido à “Science of the Total Environment” ....	60
6. Considerações .....	73
7. Conclusões.....	74
8. Referências.....	75
9. Anexos .....	82
9.1 Comprovantes de submissão dos artigos .....	81
9.2 Protocolo de Extração de DNA humano por SAL .....	84
9.3 Padronização da MS-PCR para o éxon I do BDNF .....	85
9.4 Questionário utilizado para a pesquisa .....	86

## 1. Introdução

O Brasil certamente representa um dos países mais desiguais do mundo. Os desdobramentos desses problemas sociais deram subsídios para que Edmar Bacha (1975) descrevesse o Brasil como Belíndia, ou seja, uma comparação entre a pequena e rica Bélgica com a pobreza e imensidão da Índia (BACHA, 1976).

Com 15,6% da população brasileira residindo em localidades rurais (IBGE, 2010), o país é uma importante potência agrícola, com a economia mais forte na América Latina, sendo o maior produtor mundial de café (SCHNEIDER, 2016) e o maior consumidor de agrotóxicos (ANVISA, 2012). Com superfície de 0,5% do território nacional, o Estado do “Espírito Santo” aparece como o segundo produtor de café do país, o primeiro em *Coffea canephora* (BORGES, 2015).

O mesmo Brasil que foi reconhecido pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura como um país livre da fome (FAO, 2016), apresenta desafios como desnutrição, pobreza e má distribuição de renda (BACHA, 1976; FAO, 2016).

Desde o ano 2006, a Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) no Brasil é relacionada com a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometimento do acesso a outras necessidades essenciais e tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentáveis (BRASIL, 2006).

De acordo com a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD) (IBGE, 2010), a prevalência de Insegurança Alimentar e Nutricional (INSAN) nos domicílios brasileiros caiu de 39,8% em 2004 para 25,8% em 2013. No Estado do Espírito Santo esse mesmo índice variou de 32,2% para 12,2% nesse período, representando redução significativa. Há algumas evidências, no entanto, que a principal causa da INSAN entre os agricultores familiares em comunidades rurais remotas, seja a acesso a alimentos ao invés de restrição econômica (SCELZA, 2012) e/ou desigualdade da posse da terra (FAO, 2016).

A transição do campo para a cidade, iniciada desde o século passado levou a modificações dos hábitos de vida determinando uma maior incidência de doenças crônicas, o que tem exigido maior atenção das autoridades de saúde pública (MELCHIOR et al., 2009).

Os elevados níveis de estresse associados ao déficit nutricional têm apresentado efeitos importantes no estado de saúde, estudos recentes associaram a INSAN com a piora da qualidade da saúde mental com ênfase nos estados de ansiedade e depressão

(LEUNG et al., 2015). Além disso, a INSAN está ligada a problemas de uso de drogas na adolescência (MELCHIOR et al., 2009) e ideação suicida na idade adulta (DAVISON, MARSHALL-FABIEN E TECSON, 2015).

A INSAN relaciona-se com a vulnerabilidade social por resultar de uma combinação de fatores que podem produzir uma deterioração do nível de bem-estar de pessoas, famílias ou comunidades, conforme a exposição a determinados tipos de riscos (VALENTE, 2002). Muitos problemas de saúde têm sido atribuídos a mediadores sócio ambientais, como qualidade da alimentação, exposições a substâncias químicas e fatores socioeconômicos, que favorecem o aparecimento de alterações epigenéticas que resultam na alteração da expressão gênica e o risco de doenças (KIM, 2007).

O conhecimento sobre os mecanismos de interação entre a genética e a nutrição é recente (DAUNCEY, 2012), tendo sido introduzido em 1939 por C.H. Waddington, com a descrição das interações entre os genes e seus produtos na produção de determinados fenótipos. Mais tardiamente, a epigenética foi relacionada com as alterações hereditárias da expressão gênica que não se devem a alterações na sequência do DNA (ESTELLER, 2005).

A metilação do DNA, dentre as alterações epigenéticas conhecidas, tem recebido atenção como potencial mediador entre as exposições ambientais e a manifestação dos fenótipos em adaptação ao meio (HOU et al., 2012). O mecanismo de metilação da região promotora de um gene está geralmente associado com a inibição da transcrição, também conhecido como silenciamento gênico (BOCKMÜHL et al., 2015). Na função cerebral, esses mecanismos estão envolvidos com a cognição, inteligência, transtornos alimentares, autismo, depressão, esquizofrenia e doença de Alzheimer (RODRÍGUEZ-DORANTES, 2004; ESTELLER, 2005).

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro, conhecido pela sigla BDNF, é uma proteína que promove a sobrevivência neuronal frente às agressões, sendo de fundamental importância para a manutenção das funções cerebrais. A diminuição na quantidade deste fator pode ser decorrente de uma série de insultos provenientes do meio externo como na presença de agentes tóxicos e nutrientes ou ainda de agentes internos, como na presença de substâncias produzidas pelo estado de estresse (MARTINOWICH E MANJI, 2007).

Estudos vêm associando a diminuição do BDNF no cérebro e no sangue ao quadro de depressão e outras condições psiquiátricas com associação ao aumento da metilação do DNA em promotores de BDNF (MARTINOWICH E MANJI, 2007; PRYOR et al., 2016).

Considerando a grande importância de BDNF no sistema nervoso central e seu papel crucial na neurotransmissão, um grande número de estudos vem buscando

analisar o papel desse gene na patogênese e resposta aos tratamentos em diferentes condições neuropsiquiátricas (PRYOR, 2016).

O conhecimento sobre os possíveis mecanismos epigenéticos no curso da vida é extremamente promissor. Aproveitar esta oportunidade, significa traduzir esse conhecimento em benefício da saúde pública. Desenvolver um modelo conceitual global e um quadro organizacional para orientar a integração da pesquisa multidisciplinar e o desenvolvimento de políticas e práticas comunitárias, trará ganhos para a humanidade.

Diante que foi apresentado, o objetivo deste trabalho foi investigar a prevalência de insegurança alimentar e de metilação do éxon I do gene BDNF, em cafeicultores familiares do Caparaó, no estado do Espírito Santo. Mais especificamente, buscou-se identificar fatores associados à INSAN e, mensurar a magnitude da associação entre fatores nos agricultores familiares na região do Caparaó Capixaba.

## 2. Revisão da literatura

### 2.1 *Brasil Rural*

O Brasil Rural comporta uma diversidade de ecossistemas, raças, etnias, religiões, povos, culturas, segmentos econômicos e sociais, sistemas de produção, padrões tecnológicos, formas de organização social e política e contribui com a geração de postos de trabalho e de renda advinda de atividades agrícolas e não-agrícolas, além da produção de alimentos, matérias-primas e serviços (IPEA, 2013). O país é uma importante potência agrícola e industrial, com a economia mais forte na América Latina. É o maior produtor mundial de café e cana-de-açúcar, assim como o segundo maior produtor de soja (FIDA, 2016).

Em termos produtivos, nota-se que o segmento da agricultura e produção familiar no Brasil é responsável pela produção de cerca de 70% dos alimentos básicos consumidos pela população brasileira [feijão (70% da produção nacional), milho (46%), café (38%), e leite (58%)]. No entanto, é também um importante produtor de alguns produtos de exportação, tais como aves e suínos (50% do total), contribuindo para garantir o abastecimento interno, a segurança alimentar e nutricional, e a estabilidade dos preços. Entretanto vale ressaltar que nem sempre os preços recebidos atingem o custo de produção, causando prejuízos e descapitalização do (a) agricultor (a) familiar (IPEA, 2013).

Com uma superfície que corresponde a apenas 0,5% do território nacional, o Estado do Espírito Santo aparece como o segundo produtor de café do país, o primeiro em *Coffea canephora*. O produto mais representativo na agricultura do Espírito Santo é o café, com uma área colhida de 462.938 hectares em 2013, o que representou 68,5% da área colhida dos produtos capixabas. É também o segundo produtor e maior exportador de mamão papaia do Brasil. Na produção de coco anão, aparece novamente em primeiro lugar (INCAPER, 2015). No estado, o agronegócio, ou seja, os negócios ligados à agricultura, respondem hoje por cerca de 30% do PIB estadual e absorvem aproximadamente 40% da população economicamente ativa, da qual 28% estão diretamente ligadas à produção. É a mais dinâmica atividade econômica para cerca 80% dos municípios capixabas (INCAPER, 2015).

Segundo estudo do INCRA, citado por INCAPER (2015), 77% dos estabelecimentos rurais do Estado do Espírito Santo são familiares, que segundo o inciso II, do art. 4º, do estatuto da terra (Lei 4.504/64) possui a seguinte definição:

“imóvel rural que, direta e pessoalmente explorado pelo agricultor e sua família, lhes absorva toda a força de trabalho, garantindo-lhes a subsistência e o progresso social e econômico, com área máxima fixada para cada região e tipo de exploração, e eventualmente, trabalho com a ajuda de terceiros.”

No Espírito Santo, noventa e dois por centenas de propriedades estão na faixa de até 100 hectares (aproximadamente 4 módulos fiscais), e cerca de 81% das propriedades têm dimensão menor que 50 hectares. Ao Sudoeste do estado, nos municípios que compõem o Consórcio Caparaó Capixaba, há também a predominância (95,60%) de posses de terra em até 4 módulos fiscais (INCRA, 2013). Conforme quadro 01 abaixo, a dimensão territorial destes onze municípios em conjunto representa cerca de 8,11% do território do Estado Santo, possuindo uma população em torno de 165.196 habitantes (4,11% do ES), distribuídos 58,63% no meio urbano e no meio rural 41,37% (IBGE, 2010).

**Quadro 01: Distribuição do número de imóveis rurais módulo fiscal e categoria de imóvel dos municípios do Caparaó Capixaba conforme Lei 4504/64**

Município	Módulo fiscal do município (hectare)	Minifúndio até 1 MF	Pequena Propriedade de 1 a 4 MF	Média Prop. de 4 a 15 MF	Grande Prop. 15 MF ou mais	Total
Alegre	24	1802	858	136	5	2801
Divino São Lourenço	20	647	229	32	3	911
Dores do Rio Preto	20	564	177	28	1	770
Guaçuí	22	850	389	109	9	1357
Ibatiba	20	1300	210	23	1	1534
Ibitirama	24	1054	310	33	1	1398
Irupi	20	1156	223	15	0	1394
Íluna	20	1952	501	77	4	2534
Jerônimo Monteiro	30	615	126	16	2	759
Muniz Freire	18	1636	865	171	8	2680
São José do Calçado	20	573	331	76	4	984
<b>TOTAL</b>		<b>12149</b>	<b>4219</b>	<b>716</b>	<b>38</b>	<b>17122</b>
em %		70,96	24,64	4,18	0,22	100,00

Valor médio do módulo fiscal (MF) dos municípios = 21,64 hectares

Fonte: INCRA, 2013

Na região estudada, a posse/concentração de terra classificada pelo Índice de GINI, apresentou valores de 0,548 a 0,647 (BARROS, 2010), semelhantes ao do Brasil (0,591). Este índice, criado pelo matemático italiano Conrado Gini, é um instrumento para medir o grau de concentração de renda/terra em determinado grupo. Ele aponta a diferença entre os rendimentos dos mais pobres e dos mais ricos. Numericamente, varia de zero a um. O valor zero representa a situação de igualdade, ou seja, todos têm a



mesma renda. O valor um está no extremo oposto, isto é, uma só pessoa detém toda a riqueza. No Relatório de Desenvolvimento Humano 2004, elaborado pelo Programa da Nações Unidas para o Desenvolvimento, o Brasil aparece quase no final da lista de 127 países. Apenas sete nações apresentam maior concentração de renda.

A região do Caparaó tem pouca expressividade na economia do Estado do Espírito Santo, participando com 1,8% no PIB (IBGE, 2007). As atividades da agropecuária ocupam formalmente 57,22% da mão de obra, sendo seguida por atividades de prestação de serviços (24,26%). Segundo dados do Censo Demográfico de 2010 para a região estudada, os índices de analfabetismo indicam que 18,4% da população de 15 anos e mais era analfabeta, taxa superior àquela apresentada pelo Estado (8,1%) e pelo Brasil (9,6%) (IBGE, 2010).

Segundo o Instituto de Pesquisas do Espírito Santo (IPES), no ano 2000, o índice de mortalidade infantil do Caparaó Capixaba foi de 26,71‰ (óbitos de crianças por mil nascidos vivos), enquanto o do Estado do Espírito Santo foi de 18,63‰. Apesar de ter melhorado em 2008 apresentava ainda índices elevados 18,18‰ ante 14,24‰ do índice geral do Estado em 2010 (BRASIL, 2010). Estes achados se relacionam ao carente saneamento básico do meio rural, onde há o predomínio de lançamento de esgotos em rios, lago ou valas, além de um número significativo de domicílios sem banheiro ou sanitário (BANDES, 2005).

Conforme relatado pelo Atlas de Desenvolvimento Humano do Brasil, 2013, o índice de desenvolvimento humano municipal (IDHM) para os municípios da região variou de 0,622 (Ibitirama) até 0,721 (Alegre), com um valor médio de 0,665. As faixas de classificação do IDHM são “muito baixo” (0 a 0,499); “baixo” (0,500 a 0,599); “médio” (0,600 a 0,699); “alto” (0,700 a 0,799) e “muito alto” (0,800 a 1). Este índice é composto por três indicadores de desenvolvimento humano: vida longa e saudável (longevidade), acesso ao conhecimento (educação) e padrão de vida (renda). Vale ressaltar que segundo os mesmos autores, 74% das cidades brasileiras se encontram nas faixas de “médio” e “alto desenvolvimento” e cerca de 25% deles na faixa de “baixo desenvolvimento”, uma importante evolução quando comparamos com dados de 1991, 2000 e 2010 que apresentavam respectivamente, 85,8%, 70% e 0,57% de avaliação da população com “muito baixo desenvolvimento humano”.

## **2.2 Uso de agrotóxicos no Brasil**

O processo produtivo agrícola brasileiro está cada vez mais dependente dos agrotóxicos e fertilizantes químicos. A lei dos agrotóxicos (Lei nº 7.802/89), atualmente regulamentada pelo Decreto 4.074, de 4 de janeiro de 2002, definem que essas substâncias são: “os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos”.

Segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2010) enquanto, nos últimos dez anos, o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190%. Em 2008, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos.

O Brasil, em 2009 alcançou a marca de 826,7 milhões de toneladas de pesticidas vendidos, segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Defesa Agrícola (SINDAG, 2010), superando os Estados Unidos, o maior produtor mundial de alimentos, que consumiu 646 milhões de toneladas.

O sistema de informação de vigilância em saúde de populações expostas a solo contaminado (SISSOLO) estima haver dez milhões e seiscentos e trinta e cinco mil (10.635.000) pessoas expostas, ou potencialmente expostas, em cinco mil duzentos e noventa e dois (5.292) áreas contaminadas ou sob suspeita de contaminação por substâncias químicas no País no ano de 2010 (ANVISA, 2010).

O crescente uso de agrotóxicos na produção agrícola e a consequente presença de resíduos acima dos níveis autorizados nos alimentos têm sido alvos de preocupação no âmbito da saúde pública, exigindo, das diversas esferas de governo, investimento e organização para implementar ações de controle do uso de agrotóxicos. A Organização Mundial de Saúde informa que 70% das intoxicações humanas por agrotóxicos ocorrem nos países em desenvolvimento (WHO, 1995).

Atualmente, se sabe que vários agrotóxicos são suspeitos de apresentarem atividade carcinogênica ou hormonal (IBAMA, 2002). O envolvimento de jovens e crianças no trabalho e o fato da grande maioria das famílias morar na proximidade das áreas de cultivo facilitam a exposição por via ambiental e faz com que mulheres, em todas as fases da vida, e crianças, mesmo antes do nascimento, estejam continuamente expostas a estes agentes químicos. Essa situação torna-se ainda mais preocupante quando se sabe que vários pesticidas são suspeitos de produzirem efeitos endócrinos

que se manifestarão tardiamente ou mesmo em gerações futuras (KOIFMAN et al., 2002).

Os óbitos resultantes por envenenamentos estão relacionados principalmente às exposições agudas aos agrotóxicos, domissanitários e produtos químicos industriais. O Sistema de Informação Tóxico-farmacológica (SINITOX) observou, no ano de 2009, onze mil e seiscentos e quarenta e uma intoxicações por uso de agrotóxicos, sendo que 9,27% (1079) casos foram registrados no estado do Espírito Santo (ES) (ANVISA, 2010).

O dado acima, resultaram em 188 óbitos por exposição aos agrotóxicos no país e dezenove (10,11%) no ES. Desses, três foram considerados de origem ocupacional, e 161 (dezessete no ES) em tentativa de suicídio. Este tipo de dado não reflete a realidade, uma vez que o registro apresenta subnotificação considerável, em razão da pequena cobertura do sistema de coleta de dados a nível nacional, que só dispõe de 29 centros notificadores, a maioria localizada nas capitais (ANVISA, 2010).

### **2.3 Segurança Alimentar e Nutricional no Brasil**

É importante destacar que o Brasil na Constituição Federal de 1988 reconhece o Direito à Alimentação como uma obrigação do Estado (Emenda Constitucional n.º 64/2010). O país conta ainda com uma lei de Segurança Alimentar muito progressista que institucionaliza a política e cria as bases para uma ampla participação social na definição das prioridades. Se destaca nesse sentido, entre outros, o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA) (BRASIL, 2006).

O Brasil foi reconhecido pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) como um país livre da fome (FAO, 2016). Essa conquista, segundo este mesmo órgão, decorre da decisão política de promover o crescimento econômico com distribuição de renda e o desenvolvimento de diversas políticas públicas com grande impacto nas famílias em situação de vulnerabilidade social, que são objeto de amplo reconhecimento internacional.

As condições de saúde da população brasileira, assim como de outras nações, transcendem o conceito de ausência de doenças, e resultam de inúmeros fatores sociais, econômicos, ambientais, culturais (IPEA, 2013). Os principais problemas de saúde da população em pobreza compreendem: maior exposição a fatores de risco ambiental, exposição a doenças infectocontagiosas e crônicas não transmissíveis, pior estado nutricional, maior taxa de fecundidade, maior prevalência de edêntulos (afetando o convívio social e da capacidade de inserção no mercado de trabalho), dificuldade de

acesso à consulta oftalmológica e óculos (contribuindo para a evasão escolar e analfabetismo), dificuldade de acesso aos serviços de saúde e medicamentos.

O Brasil passou por grandes mudanças no perfil de segurança alimentar e nutricional em sua história. Com o início de uma busca incessante pelo problema da fome no país, por Josué de Castro, em 1946, as pesquisas nacionais vêm mostrando mudanças interessantes.

O modelo de produção e consumo de alimentos é fundamental para garantia de segurança alimentar e nutricional, pois, para além da fome, há insegurança alimentar e nutricional sempre que se produz alimentos sem respeito ao meio ambiente, com uso de agrotóxicos que afetam a saúde de trabalhadores/as e consumidores/as, sem respeito ao princípio da precaução, ou, ainda, quando há ações, incluindo publicidade, que conduzem ao consumo de alimentos que fazem mal a saúde ou que induzem ao distanciamento de hábitos tradicionais de alimentação (VALENTE, 2002).

A Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) no Brasil, segundo o conceito elaborado pelo Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional - CONSEA e dotado pela Lei Orgânica (LOSAN) n. 11.346, de 15 de setembro de 2006 (BRASIL, 2006), é definida da seguinte maneira:

“consiste na realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentáveis.”

O Quadro 02 mostra os determinantes da segurança alimentar e nutricional, segundo Kepple (2010):

**Quadro 02:** Determinantes da segurança alimentar e nutricional em função do nível de abrangência

<b>Nível</b>	<b>Disponibilidade</b>	<b>Acesso</b>	<b>Utilização</b>	<b>Estabilidade</b>
<b>Macro</b>	Políticas agrícolas – incentivos e subsídios	Apoio à agricultura Familiar	Políticas nacionais de saneamento básico e vigilância sanitária	Mecanismos de internacionais e nacionais para manter estabilidade econômica
	Competição com atividades agrícolas não alimentares	Políticas econômicas, sociais e assistenciais	Políticas de Educação Alimentar Nutricional	de Leis trabalhistas e Sustentabilidade social, econômica e ambiental de políticas
	Preços no mercado internacional	Preços internos		
	Desastres ambientais e guerras			
<b>Meso</b>	Inserção na rede de distribuição de alimentos-transporte	Empregos e salários Preços dos alimentos e de	Saneamento básico e vigilância sanitária	Crescimento do mercado de emprego formal

	Produção local	outras necessidades Básicas	Disponibilidade de serviços de saúde	Disponibilidade de creche
			Educação Alimentar e Nutricional	Variabilidade climática
				Flutuações de preços
<b>Micro</b>	Proximidade aos pontos de venda de alimentos e abastecimento dos mesmos	Renda/estabilidade financeira	Saúde dos moradores	Emprego formal
		Inserção numa rede social	Práticas de higiene	Seguro-desemprego
	Produção para auto-Consumo	Participação em programas assistenciais	Acesso ao saneamento básico e água potável	Capacidade de armazenar Alimentos
			Educação Alimentar e Nutricional	Vagas na creche

**Fonte:** Kepple, 2010

Atualmente no país, a Insegurança Alimentar e Nutricional (INSAN) vem sendo avaliada com o uso da Escala Brasileira de Medida Domiciliar da Segurança e Insegurança Alimentar (EBIA). A escala permite identificar níveis diferentes e progressivos de acesso das famílias aos alimentos (PÉREZ-ESCAMILLA et al., 2004; SEGALLCORRÊA et al., 2009a). A escala é capaz de avaliar e classificar os diferentes níveis de insegurança alimentar: Insegurança Alimentar Leve; Insegurança Alimentar Moderada; Insegurança Alimentar Grave e Segurança Alimentar. De acordo com o estudo de revisão de Moraes et al (2014), a EBIA apresentou concordância com indicadores antropométricos, dietéticos e sociais, o que a torna útil para estimar a prevalência de INSAN em seus diferentes níveis e para identificar os grupos populacionais de risco, desde que sejam utilizados conjuntamente com outros indicadores apropriados.

De acordo com a PNAD/IBGE, o percentual de pessoas no Brasil que se encontrava em algum grau de INSAN no domicílio caiu de 39,8% em 2004, para 34,1%, em 2009, e para 25,8% em 2013. No Espírito Santo esse mesmo índice variou de 32,2% em 2004, para 31%, em 2009, e para 12,2%, em 2013, redução bastante significativa. Estimou-se que, em 2013, no Espírito Santo, 469.535 pessoas apresentavam alguma restrição alimentar ou, pelo menos, alguma preocupação com a possibilidade de ocorrer restrição, devido à falta de recursos para adquirir alimentos. Em 2009, o número estimado foi de 1.113.270 ou seja, 643.635 indivíduos conseguiram superar a situação de INSAN de 2009 a 2013. Apesar dessa melhora significativa, há no estado, aproximadamente, 75 mil pessoas em situação de INSAN grave. Para o Brasil, este

número reduziu para 30,2% na PNAD/IBGE 2010, o que significa que o país ainda apresentava cerca de 17,7 milhões de domicílios com alguma restrição alimentar, totalizando 65,5 milhões de pessoas nesta situação. Dos 58,6 milhões de domicílios pesquisados na PNAD/IBGE 2010, 69,8% estavam em situação de Segurança Alimentar, o que equivalia a 126,1 milhões de cidadãos (IJSN, 2015).

Em 2013, o espaço rural no Espírito Santo, apresentou proporções maiores de pessoas em situação de segurança alimentar (92,5%) do que as proporções observadas no meio urbano (87%), diferentemente do Brasil (urbano: 76,7%; rural: 59,9%) e da região Sudeste (urbano: 83,8%; rural: 81,4%). Tal fato pode estar relacionado à estrutura produtiva do Estado, com a presença de pequenas propriedades, que tendem a favorecer uma melhor distribuição dos alimentos em nível local em oposição às produções em grande escala, hipótese a ser testada em outro espaço (PNAD/IBGE, 2013).

Embora a fome e a desnutrição sejam as manifestações mais graves da insegurança alimentar e a incapacidade de acesso a sua principal causa, outros aspectos devem também ser considerados de maneira que identifiquem as condições necessárias para melhorar esta situação, seja nos planos locais e nacionais ou no plano global (PINHEIRO, 2005). Um primeiro ponto diz respeito à qualidade dos alimentos e sua sanidade, ou seja, todos devem ter acesso a alimentos de boa qualidade nutricional e que sejam, isentos de componentes químicos que possam prejudicar a saúde humana. Estes dois atributos ganham grande importância na conjuntura atual que favorece o desbalanceamento nutricional de dietas alimentares, bem como o envenenamento dos alimentos, em nome de uma maior produtividade agrícola ou com utilização de tecnologias cujos efeitos sobre a saúde humana permanecem desconhecidos (MALUF et al., 2000). Os mesmos autores ainda consideram mais outros dois pontos importantes, um referindo aos hábitos e à cultura alimentar como patrimônio cultural intrínseco às comunidades locais, e o outro focado na sustentabilidade do sistema alimentar, uma vez que a segurança alimentar depende não apenas da existência de um sistema que garanta, presentemente, a produção, distribuição e consumo de alimentos em quantidade e qualidade adequadas, mas que também não venha a comprometer a mesma capacidade futura de produção, distribuição e consumo.

Assim, quando ocorre a violação do direito humano à alimentação e não é assegurado o acesso permanente a alimentos de qualidade e em quantidade suficiente ou às condições para sua obtenção, são geradas situações de insegurança alimentar (SÍCOLI, 2006). A insuficiência de renda, o elevado nível de desemprego, a concentração de terra, a mercantilização da água e a precarização da educação limitam o acesso à alimentação e nutrição e impedem uma vida digna para toda população

brasileira (VALENTE, 2002). Há evidências também, que a principal causa da insegurança alimentar entre os agricultores familiares em comunidades rurais remotas, seja a dificuldade de acesso aos alimentos em vez de restrição econômica (SCELZA, 2012) e/ou uma grande disparidade da posse da terra (FAO,2016).

A maior dimensão do conceito de segurança alimentar e nutricional veio ultrapassar o quesito de carências nutricionais (MALUF, 2007), principalmente devido a transição nutricional marcada pela dupla carga de doenças, ou seja, a coexistência das carenciais (desnutrição, e deficiências de micronutrientes) e das relacionadas ao sobrepeso/obesidade e associadas às crônicas não transmissíveis. Fatores ligados a INSAN muitas vezes provocam alterações na ingestão de alimentos e em comportamentos alimentares. Por exemplo, indivíduos em INSAN tendem a consumir alimentos que possuem alta densidade energética, mas são pobres nutricionalmente. Além disso, em circunstâncias onde os alimentos são limitados, os indivíduos relatam excessos ou comem alimentos que não gostam para compensar os períodos de carência. Esses mesmos comportamentos sustentam distúrbios relacionados com a alimentação, incluindo a obesidade e diabetes, e outras doenças crônicas e mentais (insônia, dor crônica, e distúrbios de estresse) (TAYIE e ZIZZA, 2009).

Portanto, a INSAN pode ser diagnosticada por diversos indicadores, desde fome, desnutrição e carências nutricionais específicas, bem como pelo excesso de peso e doenças promovidas pela alimentação inadequada, que possuem relação estreita com outro tipo de fome, a “fome oculta” que se caracteriza pela inadequação alimentar quantitativa e/ou qualitativamente (SEGALL-CORRÊA, 2007), ocasionando em déficits cognitivo e de capacidade de trabalho, assim como aumento de morbimortalidade (FAO, 2012). As medidas antropométricas são indicadores importantes do estado nutricional, mas avaliam de forma indireta e limitante a segurança alimentar e nutricional, já que podemos encontrar indivíduos em segurança alimentar que estejam abaixo ou acima do peso ideal. Esta situação indica comprometimento da qualidade da dieta (PÉREZ-ESCAMILLA, 2005).

Vale ressaltar que nenhum indicador, isoladamente, consegue abranger as múltiplas dimensões da segurança alimentar e nutricional, uma vez que cada método monitora o fenômeno segundo ótica própria, tornando os mesmos complementares (PÉREZ-ESCAMILLA, 2005).

## **2.4 O Estresse Aliado a Insegurança Alimentar e Nutricional**

O surgimento de várias doenças crônicas e de problemas sociais podem ser observados quando multiplica-se esses efeitos em grandes populações que sobrevivem com acesso limitado a nutrição adequada, em ambientes que criam e mantêm altos níveis de estresse, com déficit de moradia, de baixo nível de escolaridade e de desemprego (WALLACK e THORNBURG, 2016).

Nos países industrializados, a ingestão calórica excessiva é um dos principais determinantes de doenças crônicas complexas, tais como obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e até mesmo câncer. Por outro lado, nos países pobres, desnutrição e subnutrição, especialmente durante o período perinatal, não só aumentam a mortalidade neonatal e morbidades perinatais, mas também o risco de doenças crônicas na idade adulta (SAENGER et al., 2007; HORTON, 2008).

A exposição pré-natal ao estresse elevado e nutrição ineficiente representam o risco inicial. Esta vulnerabilidade ou risco inicial é amplificado para quem mora em locais desfavorecidos pela contínua exposição a ambientes pobres e de difíceis condições sócioeconômicas (McEWEN, 2012).

A INSAN relaciona-se com a vulnerabilidade social por resultar de uma combinação de fatores que podem produzir uma deterioração do nível de bem-estar de pessoas, famílias ou comunidades, conforme a exposição a determinados tipos de riscos (VALENTE, 2002). O surgimento de problemas que interferem na oferta, no acesso físico e econômico, no consumo ou no padrão de utilização biológica dos alimentos, ou seja, que resultem em situação de insegurança alimentar, pode levar ao desenvolvimento de doenças e agravos endêmicos, como a desnutrição, as carências específicas, a obesidade, o diabetes mellitus, as dislipidemias e as associações com outras doenças crônicas de reconhecida relevância epidemiológica e cuja resolução compete a sociedade (SÍCOLI, 2006).

Segundo Barker (2012), doenças como diabetes e cardiovasculares foram programadas em nossos sistemas como resultado de estresse social e deficiência nutricional durante o período crítico de desenvolvimento, da gravidez até cerca de dois anos. A má nutrição, associada a más condições de vida, retarda o crescimento e desenvolvimento fetal e prejudica a saúde a longo prazo. O baixo peso ao nascer refletiu um aumento substancial do risco de doenças crônicas como diabetes tipo dois e doença cardíaca na idade adulta. Para este período de desenvolvimento, o risco de comprometimento da função cognitiva e de sérios problemas de saúde mental também foram comprovados (VAN DEN BERGH, et al 2005)



Nos primeiros mil dias desde a gestação até cerca de dois anos, o risco de desenvolvimento de doenças crônicas é influenciado pela programação funcional de órgãos-chave, os quais estão sujeitos a alterações no metabolismo e feedback hormonal, deixando a pessoa na fase adulta mais vulnerável a condições ambientais adversas (WALLACK e THORNBURG, 2016).

A vulnerabilidade desencadeia situações de menor habilidades sociais no início da vida, de precário desempenho escolar e, má saúde ao longo da vida (MESSER, 2015). Os ambientes hostis marcados pela discriminação (racial ou outras), pela desigualdade e pela desvantagem social cria um desequilíbrio constante nos sistemas fisiológicos humanos aumentando a probabilidade de que a vulnerabilidade desencadeará uma doença ao longo da vida (MEHTA e BINDER, 2011; MCEWEN, 2012).

Quando o feto em desenvolvimento recebe um sinal de que o ambiente biológico tem nutrientes limitados, por exemplo, representa uma previsão e o começo de uma reprogramação de seus sistemas. Isso induz o organismo a fazer escolhas de quais órgãos obterão a energia para o crescimento ideal e desenvolvimento. Isso significa que alguns órgãos podem ser concebidos com capacidade limitada para a vida. Simultaneamente, outros sistemas metabólicos e biológicos são igualmente programados com uma estratégia para absorver o máximo de um ambiente pobre em nutrientes. O dano precoce é incorporado para toda vida (BARKER, 2012).

O feto também obtém uma segunda indicação sobre como o ambiente é: seguro ou ameaçador. Se uma gestante vive constantemente num ambiente altamente estressante, como o marcado pela pobreza, discriminação racial, desemprego, insegurança e outros aspectos de desvantagem social, altos níveis de cortisol são passados para o feto em desenvolvimento. Altos níveis de cortisol no útero estão associados a problemas cognitivos, problemas de memória e fonoaudiológicos, de limitação do raciocínio, planejamento e julgamento. Obviamente, os danos ocasionados são sérios pois estas habilidades são fundamentais para que as crianças tenham sucesso na escola e na vida (SHONKOFF et al., 2009).

O estresse psicológico crônico está associado a um maior risco de depressão, doença cardiovascular (DCV), diabetes, doenças autoimunes, infecções respiratórias superiores (URI), e dificuldade em cicatrização de feridas (COHEN et al., 2007).

Embora estas associações são muitas vezes atribuídas a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), poucos estudos em humanos incluem avaliações de eventos estressantes, e doença nos mesmos indivíduos. A falta de tais estudos é, em parte, atribuível à compreensão ainda parcial dos efeitos do estresse prolongado sobre a HPA em seres humanos e em determinar que mudanças induzidas pelo

estresse no HPA desempenham um papel favorável ao risco de doença (McEWEN, 2008).

Assim, a má nutrição e o estresse social elevado são igualmente responsáveis e devem ser tratados simultaneamente (WALLACK e THORNBURG, 2016).

## **2.5 Epigenética**

As mudanças ou as marcas epigenéticas referem-se às alterações na estrutura do DNA ou da histona que não afetam a seqüência do DNA mas que podem afetar a expressão gênica e conseqüentemente a função celular. O efeito sobre a função celular pode ser duradouro e, em muitas circunstâncias, ser transmitido a gerações subsequentes de células (NOTTERMAN e MITCHEL, 2015).

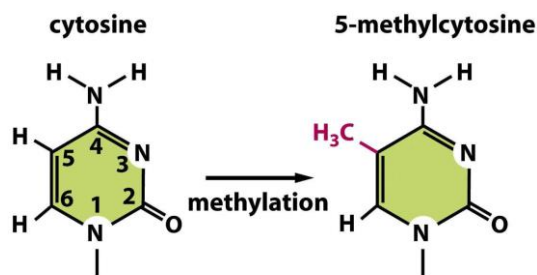
Apesar de possuírem o mesmo DNA, diferentes tipos de células têm padrões distintos de expressão gênica para desempenhar funções diferentes (RAZIM, 1998). Um mecanismo que explica essa expressão genética diferencial são as alterações epigenéticas, que podem estar ligadas a variações nos fenótipos comportamentais dos seres humanos (SZYF, 2009). Um aspecto chave do epigenoma é que, ao contrário da seqüência de DNA, pode ser modificado por intervenções ambientais e farmacêuticas. Isto proporciona a possibilidade para reverter o efeito de eventos adversos na saúde (MILLER, CHEN e FOK, 2009).

Após a recepção de um sinal apropriado, a célula pode implementar ou retirar fatores de transcrição específicos, em minutos, modulando, assim, rapidamente a transcrição de genes específicos. Este tipo de resposta de sinalização é rápida e facilmente reversível. Por outro lado, as alterações epigenéticas ao DNA geralmente levam dias ou anos para ocorrer e, como mencionado, elas tendem a ser estáveis (NOTTERMAN e MITCHEL, 2015).

Em termos bioquímicos, epigenética refere-se a um número de modificações da cromatina que, não alterando a seqüência primária do DNA, tem importante papel na regulação e no controle da expressão gênica. Deste modo, a transmissão de informação através dos níveis de expressão dos genes opõe-se à genética no que se refere às informações transmitidas na base da seqüência dos nucleotídeos. Herdada durante a divisão celular, independente da seqüência do DNA (FEINBERG, 2006), a epigenética mantém a integridade do genoma e a identidade celular (WEBER, 2007).

As modificações epigenéticas podem ocorrer ao nível de DNA (exemplo: metilação do DNA) e/ou afetar a estrutura das proteínas da cromatina (histonas), entre outras, ambas potencialmente reversíveis (YOO, 2006).

Portanto, a metilação do DNA é um importante mecanismo epigenético de regulação da expressão dos genes, da manutenção da integridade e estabilidade do DNA, das modificações cromossômicas e do desenvolvimento de mutações (MULERO-NAVARRO, 2008). Consiste na adição de um grupo metil ao C5 do radical de citosina que precedem as guaninas, os dinucleotídeos CpGs, através das enzimas DNA-metiltransferases, com formação de metilcitosina (figura 01). Esta reação utiliza S-adenosil-metionina (SAM) como doador de grupos metil (LOPEZ et al., 2009).



**Figura 01:** 5-metilcitosina é formada pela adição de um grupo metilo (-CH<sub>3</sub>) à citosina (DE ALBERTS, 2008)

O genoma humano apresenta uma porcentagem muito pequena de dinucleotídeos CpG dispersos ao longo do genoma, que se encontram quase sempre metilados. Entretanto, estes não se encontram distribuídos aleatoriamente, existindo regiões ricas em CpG, denominadas ilhas de CpG, que ocupa região reguladora terminal 5' de aproximadamente 50% dos genes (ESTELLER, 2005), nomeadamente genes supressores tumorais ou outras regiões intergênicas, estando quase sempre não metilados. Por outro lado, estes dinucleotídeos estão pouco representados no genoma global devido a desaminação espontânea da 5-metilcitosina em timidina. Assim, numa célula normal, ocorre hipermetilação global do genoma e hipometilação localizada, sendo que a metilação está associada à inativação da transcrição do gene correspondente.

Avanços nas técnicas para detecção da metilação incluem ferramentas como conversão por bissulfito de sódio, cDNA *microarrays*, utilização de enzimas de restrição e *microarrays* de ilhas CpG. Para ser utilizada como técnica de diagnóstico de rotina, o método de detecção de metilação precisa ser sensível, fácil, rápido e reproduzível. Das várias técnicas avaliadas, a PCR por metilação específica (MSP) parece ser a mais eficaz (DAS e SINGAL, 2004).

## 2.6 Modulação Epigenética

A história da vida, a sociologia e a biologia se associam para criar perspectivas duradouras para saúde e sucesso social (COMBS-ORME, 2013). A pesquisa sobre a regulação epigenética da atividade gênica relacionada ao comportamento e a influência do ambiente social sobre a regulação epigenética começou ser melhor compreendida há cerca de uma década (SZYF, 2009). Apesar desta relativa novidade, há agora evidências de que as experiências de vida (e especialmente as primeiras experiências de vida) podem influenciar diretamente a função genética, alterando os padrões epigenéticos em loci específicos no genoma (CHAMPAGNE, 2010; DESAI, et al 2015).

Os genes não são um modelo determinista para a saúde, mas uma coleção de infinitas possibilidades que são ativadas ou não, dependendo das condições vividas pelas mães antes e durante a gravidez, assim como da nutrição e ambiente social que são expostos os bebês (WALLACK e THORNBURG, 2016).

As pessoas desenvolvem doenças crônicas não por causa dos genes que herdamos, mas principalmente por causa de como esses genes agem em resposta ao estresse ambiental. Este processo epigenético de regulação genética é onde a natureza e a nutrição se reúnem (JANG e SERRA, 2014; WALLACK e THORNBURG, 2016).

O aumento de conhecimentos epidemiológicos sugere que a nutrição materna e a exposição a fatores ambientais no início do desenvolvimento desempenham um papel importante na suscetibilidade a doenças na vida adulta. Quando se trata de saúde, segundo Jang e Serra (2014), o seu endereço/local de moradia pode ser mais importante que seu código genético, visto que as principais doenças crônicas não transmissíveis têm em comum alguns fatores ambientais modificáveis como sedentarismo e hábitos alimentares inadequados, como consumo excessivo de gordura animal, ingestão insuficiente de frutas e hortaliças (PNAD, 2013).

Componentes dietéticos, nutrientes ou não, podem influenciar os eventos epigenéticos, alterando a expressão gênica e o risco de doença. Estudos demonstram que os padrões de metilação de DNA são suscetíveis ao excesso ou deficiência de uma variedade de compostos da dieta. O grupo metil da 5' metilcitosina é tanto sintetizado *de novo*, pelo processo conhecido como metabolismo de um carbono, ou é fornecido pela dieta. Em frutas e vegetais são encontrados nutrientes como ácido fólico, vitaminas e minerais que estão associados a eficiência do processo de metilação (KIM, 2007).

Por isso, a escolha correta dos alimentos, pode ter um impacto relevante no consumo de micronutrientes, como zinco, ferro, folato, vitamina B12, colina e metionina, que são as principais fontes dietéticas necessárias para manter a metilação genômica do DNA (FENECH *et al.*, 2005).

Durante a fase de desenvolvimento uterina, os bebês são sensíveis aos sinais da mãe indicando que tipo de ambiente encontrará (MESSER, 2015) – se há ou não disponibilidade de alimentos; se o ambiente é seguro ou ameaçador (KUZAWA E QUINN, 2009). Esses sinais são traduzidos em mudanças na função genética. Estas mudanças epigenéticas podem ser transmitidas por até duas gerações, sendo reversíveis em alguns casos (ESTELLER, 2005).

A epigenética ajuda a explicar a vulnerabilidade para a doença, e até mesmo influenciar as perspectivas de sucesso social dos filhos, netos, e nas gerações futuras. Esta ciência nos obriga a repensar de onde vem a doença e a melhor maneira de promover a saúde. Identifica a questão mais fundamental da equidade social em nossa sociedade: que a desvantagem social e biológica inicial, estabelecida antes do nascimento, e até mesmo ligada à experiência social das gerações anteriores, é agravada por ambientes adversos ao longo da vida (SHONKOFF et al., 2009). Mas, ao mesmo tempo, fornece a esperança, porque mostra que o trabalho focado em melhorar o nosso ambiente pode mudar a biologia e a trajetória da doença para as gerações futuras (WALLACK e THORNBURG, 2016).

A ciência atual, através da epigenética, pode diagnosticar demandas fundamentais. Este é um direcionamento que envolve tanto a “ciência do laboratório” quanto a sabedoria popular. Assim, a revolução atual na biologia deixa claro aos políticos que os recursos da saúde pública a serem investidos devem ser prioritariamente para ambientes que favoreçam adequadamente condições sociais e alimentares a mulheres em idade fértil, no período pré-natal e na primeira infância da população (SHONKOFF, 2012).

## **2.7 BDNF e Epigenética**

O BDNF – sigla em inglês para *fator neurotrófico derivado do cérebro* - é uma proteína que, quando liberada, promove a sobrevivência neuronal, sendo de extrema importância para a manutenção das funções cerebrais. A diminuição na quantidade deste fator pode decorrer de uma série de insultos provenientes do meio externo, como por exemplo, exposição aos agentes tóxicos decorrentes do uso do tabaco e álcool, agentes inerentes ao organismo como os gerados pela via de stress, com associação entre a diminuição do BDNF e sintomas depressivos (BRUNONI; LOPES; FREGNI, 2008).

Os fatores neurotróficos são conhecidos por serem importantes reguladores da sobrevivência, desenvolvimento, função e plasticidade neuronal no sistema nervoso central e periférico. Eles são de grande importância na proteção das células neurais

expostas a situações nocivas. Um acúmulo de evidências sugere que modificações epigenéticas que incluem metilação do DNA de promotores do BDNF estão claramente associados com a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos (SEN; DUMAN; SANACORA, 2008).

A metilação de DNA de promotores I e IV foi extensivamente estudada. Estas regiões são rigidamente controlados em condição fisiológica e em resposta a estímulos ambientais, o nível de metilação destes promotores pode ser aumentado ou diminuído ativamente e a transcrição a partir destes promotores é alterada em conformidade. Enquanto a diminuição do nível de metilação do DNA envolve a dissociação de MeCP2 do promotor, o mecanismo de aumento da metilação do DNA em sítios específicos permanece amplamente obscuro. Em amostra humana, envelhecimento e genótipo podem afetar o estado de metilação de promotores de BDNF (WONG et al., 2010).

Em geral, nas várias condições psiquiátricas, os pacientes mostram uma diminuição dos níveis de BDNF no cérebro e no sangue periférico. Nos distúrbios de saúde mental, a diminuição dos níveis de BDNF foram muitas vezes associadas ao aumento da metilação do DNA em promotores de BDNF tanto em amostra de sangue quanto do cérebro *post-mortem*. Apesar do número reduzido de estudos, acredita-se que o uso de amostras sanguíneas será útil para o desenvolvimento de biomarcadores do estado de metilação do promotor do gene de BDNF e definir mais precisamente os fatores ambientais que afetem a metilação segue sendo um importante objeto de estudo em saúde (SEN; DUMAN; SANACORA, 2008).

### **3. Justificativa**

A correlação de INSAN e estresse já está estabelecida e relaciona-se com um quadro de estresse e que este processo se inicia pela preocupação e angústia ante a incerteza da disponibilidade regularmente de alimentos em um futuro próximo, passando pela experiência do comprometimento da qualidade da alimentação no domicílio.

Entretanto, atualmente, há escassez na literatura pesquisada de trabalhos envolvendo agricultores familiares com eventos estressantes que relaciona a Insegurança Alimentar e Nutricional (INSAN) e estudos de metilação do gene BDNF.

Diante do exposto, buscou-se estudar e analisar possíveis mecanismos de interação e modulação da INSAN correlacionando-o a efeitos aditivos, sinérgicos e antagonísticos à situação socioeconômica e à metilação do gene BDNF.

#### 4. Capítulo 01 – Artigo submetido a revista “BMC Public Health”

**Title:** Food and Nutritional Insecurity: epigenetic correlation of the BDNF gene, social and health status in familiar coffee farmers

Authors:

\* Wagner Miranda Barbosa <sup>1</sup>: [wagmiranda@gmail.com](mailto:wagmiranda@gmail.com)

Carlos César Jorden Almança <sup>1</sup>: [carlosjorden@yahoo.com.br](mailto:carlosjorden@yahoo.com.br)

Flavia Vitorino Fretias <sup>1</sup>: [flavitorino@gmail.com](mailto:flavitorino@gmail.com)

Catarine Conti <sup>1</sup>: [catarineconti@hotmail.com](mailto:catarineconti@hotmail.com)

Aline Ribeiro Borçoi <sup>1</sup>: [alineborcoi@hotmail.com](mailto:alineborcoi@hotmail.com)

Juliana Dalbo <sup>1</sup>: [julianadalbo@hotmail.com](mailto:julianadalbo@hotmail.com)

Erika Aparecida Silva de Freitas <sup>1</sup>: [erikasfbr@yahoo.com.br](mailto:erikasfbr@yahoo.com.br)

Suzanny de Oliveira Mendes <sup>1</sup>: [suzannymendes@gmail.com](mailto:suzannymendes@gmail.com)

João Batista Pavesi Simão <sup>2</sup>: [jbpavesi@gmail.com](mailto:jbpavesi@gmail.com)

Luciane Daniele Cardoso <sup>3</sup>: [ldcardosotr@gmail.com](mailto:ldcardosotr@gmail.com)

Jose Aires Ventura<sup>4</sup>: [ventura@incaper.es.gov.br](mailto:ventura@incaper.es.gov.br)

Adriana Madeira Alvares da Silva <sup>1</sup>: [adriana.biomol@gmail.com](mailto:adriana.biomol@gmail.com)

<sup>1</sup> Doctoral Program in Biotechnology / RENORBIO. Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES, Brazil

<sup>2</sup> Coordination Technologist Course in Cafeicultura. Federal Institute of Espírito Santo, Alegre, ES, Brazil.

<sup>3</sup> Department of Pharmacy and Nutrition. Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES, Brazil.

<sup>4</sup>Researcher at the Capixaba Institute for Research, Technical Assistance and Rural Extension. Vitória, ES, Brazil.

\* Corresponding author.



**Abstract:**

**Background:** The association between insecurity about food and nutrition (INSAN) and violation of the human right to food (HRFN) is already known. In addition, the association between work on small family farms, poor health conditions, and INSAN has been proposed in several countries. However, the impact of living with INSAN on epigenetics, including the use of methylation studies has received little attention. The brain-derived neurotrophic factor, or BDNF, is important for the maintenance of brain functions, but stress can cause methylation of the promoter region of the BDNF gene, and this epigenetic change is associated with depression.

**Objective:** To evaluate factors that might be associated with INSAN, including the methylation of exon I of BDNF and the living conditions of family farmers.

**Methods:** Caparaó Farmers from small family farms, 18 to 60 years of age, from 22 rural communities of 11 cities in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil participated in the study by answering a questionnaire about socioeconomic characteristics, ownership and use of land, behavior, health, and working conditions. The INSAN evaluation was carried out using the Brazilian Food Insecurity Scale. Methylation of exon I of the BDNF gene was examined by methylation-specific PCR. Body mass index and biochemical and molecular analyses were performed. Logistic regression models were used to verify factors associated with INSAN.

**Results:** The prevalence of INSAN and methylation were 23.68% and 39.01%. The average age was  $42.38 \pm 12.59$  years. The occurrence of INSAN was associated (28.68%) with the following factors: the methylation of the exon I promoter of the BDNF gene, Adjusted Odds Ratio (ORa) = 5.03 (95% CI 1.98 – 12.82); extra work off one's own property, ORa = 3.36 (95% CI 1.23 – 9.22); land size (hectares), ORa = 0.77 (95% CI 0.67 – 0.90); and number of real-life symptoms and/or diseases, ORa = 1.12 (95% CI 1.04 – 1.20).

**Conclusions:** The occurrence of INSAN in the members of small family farms, correlates with the conditions of a higher methylation rate of BDNF, the need to work outside the home because of low income, smaller size of the property, and greater numbers of diseases/symptoms reports.

**Keywords:** Epigenetics, Food Security and Nutrition, Insecurity, Family Agriculture, BDNF, Methylation

## Introduction

Brazil has one of the most unequal distributions of wealth in the world. The associated social problems contributed to the opinion of Edmar Bacha (1975) that Brazil could be described as “Belindia”, that is, having similarities to both Belgium, which is relatively small and rich and India with its much greater land size and higher poverty rate [1].

Brazil is a major agricultural power, with 15.6% of the population living in rural areas [2]. It is the strongest economy in Latin America, and is the world's largest producer of coffee and cane sugar [3]. Although its area is just 0.5% of the country, the state of the Espirito Santo ranks second among the country's coffee producing states, and ranks first in production of *Coffea canephora* [4].

Brazil has been recognized by the Food and Agriculture Organization of the United Nations as a country free from hunger [5]; however, there are still major challenges, such as malnutrition, poverty, and poor income distribution [1- 4].

Since 2006, discussions on Food and Nutrition Security (SAN) in Brazil involve efforts to increase access to food of appropriate quantity and quality, without compromising access to other essential needs, by means of food practices that will promote health while respecting cultural diversity and being environmentally, culturally, economically, and socially sustainable [6].

According to the National Household Sample Survey (PNAD) [2], the prevalence of Food and Nutritional Insecurity (INSAN) at home fell from 39.8% in 2004 to 25.8% in 2013. In the state of Espirito Santo, the INSAN rate was reduced from 32.2% in 2004 to 12.2% in 2013, a very significant reduction. There is some evidence that the main cause of INSAN among family farmers in remote rural communities is the shortage of food rather than economic restrictions [7] and/or inequality of land ownership [5].

The phenomenon of epidemiological transition, initiated during the last century led to a higher incidence of chronic diseases, rather than infectious diseases, which has required a shift in public health efforts [8]. The high levels of stress associated with nutritional deficits have had important effects on health status. In addition to the potential for sickness, the effect of food insecurity on mental health is an issue [9]. Food insecurity is linked to problems of drug use in adolescence [8] and suicidal ideation in adulthood [10].

INSAN is related to social vulnerability, as it results from a combination of factors that can lead to a deterioration in the well-being of people, families, and communities [11]. Many health-related outcomes have been attributed to environmental influences, such as exposure to harmful chemicals and socioeconomic factors that cause epigenetic changes and alterations in gene expression and disease risk [12].

The knowledge on the mechanisms by which nutrition and gene is recent [13], having been introduced in 1939 by C.H. Waddington, describing the interactions between genes and their products in certain production phenotypes. Later, the study of epigenetics was developed to address hereditary changes in gene expression that are not due to changes in DNA sequence [14]. DNA methylation, in particular, has received attention as a potential epigenetic mediator and moderator of environmental exposures on health-related outcomes [15]. The mechanism of methylation of the promoter region of a gene is generally associated with inhibition of transcription, also known as gene silencing [16].

In brain function, epigenetic mechanisms are involved with cognition, intelligence, eating disorders, autism, depression, schizophrenia, and Alzheimer's disease [14-17].

BDNF (brain-derived neurotrophic factor) is a protein that promotes neuronal survival, which is of paramount importance for the maintenance of brain functions. Decreases in the amount of this factor may be due to external insults (e.g. toxic agents, lack of nutrients) or internal insults (e.g. stress) several studies have associated the patients show a decrease in BDNF levels in the brain and in peripheral blood with increased DNA methylation of the promoters of BDNF [18-19].

Considering the great importance of BDNF in the central nervous system and its crucial role in neurotransmission, a large number of studies have sought to analyze the role of this gene in the pathogenesis and the response to treatment in different neuropsychiatric conditions [20].

It is hoped that understanding the impact of methylation of this gene and its association with INSAN can contribute to a greater understanding of the subjective experiences of farmers living with INSAN. This research may help to guide public policies that will reduce behavioral disorders and chronic diseases [21], as well encourage the development of more sustainable food production systems that will ensure nutrition security for traditional populations and others [22].

Therefore, in support of the objective of identifying the biomedical effects that correlate with INSAN, the objective of this study was to investigate the association of food insecurity with sociodemographic, lifestyle and epigenetic factors, among the coffee farmers in Caparaó, Espírito Santo state.

## **METHODS**

### **Source of data and procedures**

The data were collected as part of the population health evaluation of a project for the Public Health System (PPSUS) studying small coffee growers from the state of Espírito Santo, Brazil, in 2015. A cross-sectional survey was used to provide information on relationships among a farmer's property, epigenetics, health, and well-being. A personal interview was carried out with coffee growers aged 18 to 60 residing in the rural areas of 11 cities (Alegre, Divino São Lourenço, Dores do Rio Preto, Guaçuí, Ibatiba, Ibitirama, Irupi, Lúna, Jerônimo Monteiro, Muniz Freire, and São José do Calçado) located in the south of the state of Espírito Santo, Brazil. This region is known as Caparaó Capixaba.

Each family farmer was asked the following question: Do you use land to guarantee your livelihood? Those who answered positively were classified as having Food and Nutrition Security (SAN) or having Food and Nutritional Insecurity (INSAN). In order to be considered in the condition of INSAN, the interviewee would score 1 or greater on the Brazilian Food Insecurity Scale (EBIA), which has values from 0 to 14.

Families who had per capita income less than \$5 (five American dollars) per day were considered low income [23]. Overweight status and obesity were classified according to BMI [24]. Individuals with social support were considered to be those who had ties with cooperatives and/or associations of family farmers. Rural community was defined as being a region located outside the urban area of the municipalities that make up the study region.

### **Sample size calculation**

Calculation of the required sample size used the rural population of the region, which has a total of 68,221 rural workers, according to data from the Brazilian Institute of Geography and Statistics [2]. The municipalities involved were included with equal weight. In the absence of specific studies in a municipality, a prevalence of INSAN of 50% for the region was taken by reference. The estimated required sample size was

calculated assuming a sampling error of 5% and a 95% confidence interval, to be 384 family farmers [25].

For recruitment, family farmers of Caparaó Capixaba were registered through contact with the Municipal Health Department, the "Caparaó Júnior" (Junior Company of the Federal Institute of Espírito Santo - IFES/Alegre), and contact was made with community leaders.

The interviewees were selected and the individuals who volunteered signed a Free and Informed Consent Term (TCLE), in accordance with Resolution 466/12 of the National Health Council (CNS). Only one person aged between 18 and 60 years old per household was selected for the interview. The inclusion criteria were: to be a family farmer and to have coffee as the main cultivated product.

### **Biochemical evaluation**

Blood tests were performed according to the manufacturer's recommendations (Bioclin® Kits), for the following indicators: total protein, creatinine, urea, albumin, total cholesterol, high density lipoprotein, glycemia, oxalacetic transaminase, and pyruvic transaminase. The collections were performed between 6:00 a.m. and 7:00 a.m. after a 12 hour fast. All analyzes were performed using the Bioclin® BS 120® automatic analyzer.

### **Extraction and quantification of genomic DNA**

An aliquot of 500 µl of fresh whole blood was collected into an EDTA tube. DNA extraction was performed using the method of salting-out [26]. To verify the quality and concentration of DNA, a NANODROP® spectrophotometer was read at 260 and 280 nm.

### **Qualitative determination of methylation of the BDNF gene**

To determine the presence of methylation of the promoter for exon I of the BDNF gene, specific primers [27] (listed in Table 1) were used for the methylation-specific polymerase chain reaction (MS-PCR) technique. After the treatment of DNA extracted with sodium bisulfite (Zymo®), the samples were processed with MS-PCR and the results were visualized by agarose gel electrophoresis (1.5%).

**Table 1: BDNF primers**

---

Methylated primer – PCR product size 163 bp

---

*Forward:* 5'-GTA GTT TTC GTA GGA GGA TGA AGC-3 '

*Reverse:* 5'-ATA AAT AAT TAA CAA CCC CGA TAC G-3 '

---

Unmethylated primers – PCR product size 161 bp

---

*Forward* 5'- GTA GTT TTT GTA GGA TGA GGA AGT G-3 '

*Reverse:* 5'-TAT AAA TTA ACA ACC CCA ATA CAC A-3 '

---

### **Response rate**

The response rate, defined as the proportion of households where the contact was made and an interview completed, was 100%.

### **Ethics statement**

The Ethics Committee on Human Health Research of the Federal University of Espirito Santo approved the study under the number 662,550.

### **Variables**

State of Food and Nutritional Insecurity (INSAN) was treated as the dependent variable. We assessed numerous independent variables for an association with INSAN: methylation of exon I of the BDNF gene, self-reported health condition, reports of symptoms and/or diseases, socioeconomic profile, size of property in hectares, total household monthly income and per capita income, education, possession and use of land, number of produced cultivars, sex, age, life risk factors (smoking, excessive alcohol consumption), affiliation to cooperatives or associations of producers, composition of family members (marital status, presence of children, and number of family members), biochemical indicators (total protein, creatinine, urea, albumin, total cholesterol and high density lipoprotein, glycemia, oxalacetic transaminase, pyruvic transaminase, D vitamin, and cortisol).

### **Coding of variables**

With the exception of age, size of the property, number of symptoms and/or diseases, and family size, the variables were coded. For independent variables, such as education, self-reported skin color, and monthly household income with per capita income, there were a number of response options. For food and nutritional safety, SAN = 0 and INSAN = 1 were used. The methylation of the BDNF gene was rated as 0 = unmethylated and 1 = methylated. Self-reported health conditions were 0 = good/very good and 1 =

fair/poor/very poor. For marital status, 0 = without fixed partner and 1 = lives with partner. Schooling was set at 0 = illiterate, 1 = incomplete elementary school (<5 years of study), 2 = complete elementary school (= 8 years of study), 3 = high school (= 11 years of study), and higher education (15 or more years of study). For skin color, 0 = white, 1 = not white. For poverty index, 0 = not low income and 1 = low income. For social class, 1 = Class E (up to 2 minimum wages/month), 2 = Class D (2 to 4 minimum wages/month) and 3 = no income. Presence of children, minor children, garden, access to leisure activity, extra work outside their property, have a formal contract, access to government assistance/benefits, belonging to a cooperative/union, having garbage collection, were coded as 0 = yes, 1 = no. The use of pesticides (glyphosate, tebuconazole, flutriafol, thiamethoxan, or copper oxychloride), being smokers, consuming alcohol, continued use of medications, health risks due to work, work impediment due to back pain, were coded as 0 = no and 1 = yes. For the Body Mass Index (BMI), 1 = eutrophism, 2 = low weight, 3 = overweight, and 4 = obesity. Sex was coded as 0 = male, 1 = female. For biochemical profile 0 = normal, 1 = altered/elevated.

### **Statistical analysis**

After coding the samples, the data were tabulated and analyzed using the Stata® statistical software package version 14. Initially, univariate logistic regression was used to identify factors associated with food and nutritional insecurity. Then, through backward modeling, multivariate logistic regression was performed to investigate the relationship between INSAN and the associated factors identified in the univariate regression. It started with the full model, that is, all variables with  $p < 0.20$  entered into the model, and later, at each step, the variable with the lowest F value was removed. The fit of the final model was made using the goodness-of-fit test model. Statistical significance was defined as  $p < 0.05$ .

### **RESULTS**

Food and Nutritional Insecurity prevailed in 23.68% of the 570 interviews carried out in the 22 rural communities of the 11 municipalities that compose the study region (see Figure 1). Respondents were an average of 42.38 (SD  $\pm$  12.59) years old. Methylation in the promoter of exon I of the BDNF gene was present in 39.10% of the analyses performed.

In addition, it was possible to identify socio-demographic and epigenetic relationships that were associated with the high occurrence of INSAN in farmers. Tables

2 to 6 below show the general characterization of the data and too shows the results of univariate logistic regression analysis of the epidemiological data collected.

There were positive associations ( $p < 0.05$ ) with these variables: sex, education, number of living children, number of underage children, number of residents in the residence, per capita income, social class, food prices, size of property, legal status of the property, alcohol consumption, use of the pesticide thiamethoxam, medications of continuous use, number of reported symptoms and/or diseases, back pain, and general self-reported health, body mass index, abdominal circumference, and methylation of BDNF. The other variables listed were chosen for multivariate analysis, and were associated ( $p < 0.200$ ) with INSAN.

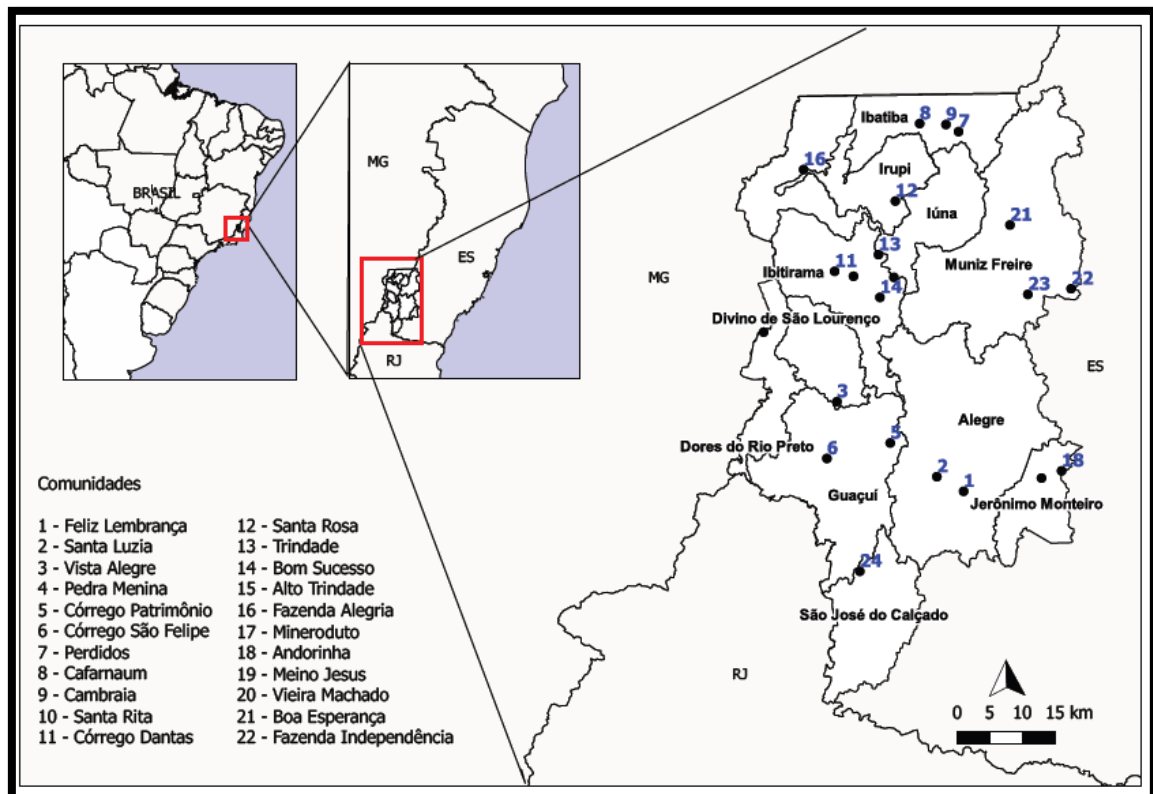


Figure 1- Map of the communities of the study participants.



**SAMPLE CHARACTERIZATION AND UNIVARIATE LOGISTIC REGRESSION  
ANALYSIS OF VARIABLES RELATED TO FOOD INSECURITY**

**Table 2:** Demographic characteristics of family farmers in Caparaó Capixaba

<b>Feature (number of observations)</b>	<b>Classification</b>	<b>Total in%</b>	<b>Odds Ratio (95% CI)</b>	<b>P value</b>
Sex (569)	Male	69.12%	1.63 (1.09 - 2.45)	0.017
	Female	30.88%		
Age (years) (564)	18-30	19.29%	1,00 (0.99 - 1.02)	0,332
	31 to 40	24.78%		
	41-50	29.38%		
	Greater than 51	26.55%		
Color (self-referenced) (565)	White	61.84%	1,24 (0.90 - 0.72)	0,180
	Not White	38.16%		
Marital status (540)	With partner	84.63%	1.54 (0.84 - 2.85)	0.165
	Without partner	15.37%		
Children (547)	Yes	84.33%	1.32 (1.09 - 1.60)	0.004
	No	15.67%		
Underage children (478)	Yes	66.00%	1.31 (1.09 - 1.57)	0.003
	No	34.00%		
Number of residents at home (566)	One	2.47%	1.17 (1.01 - 1.37)	0.038
	Two	20.67%		
	Three	29.15%		
	Four	31.45%		
	Five	11.31%		
	Six or more	4.95%		

---

Time as a farmer (513)		1,00 (0.99 - 1.01)	0,776
	Up to 10 years	5.07%	
	10 to 20 years old	15.98%	
	20 to 30 years	22.42%	
	Over 30 years	56.53%	
Legal status of property (505)		2.03 (0.90 - 4.57)	0.090
	Owner (297)	58.77%	
	Partner (108)	21.34%	
	Colonist (28)	5.61%	
	Others (72)	14.27%	
Property size (hectares) (505)		0.92 (0.89 - 0.96)	0.000
	Up to 4	47.23%	
	4.01 to 10	30.43%	
	10.01-20	12.65%	
	20.01 to 75	8.50%	
	Above 75	1.19%	

---

**Table 3:** Socio-economic characteristics of family farmers in Caparaó Capixaba

<b>Feature</b>	<b>Classification</b>	<b>Total in%</b>	<b>Odds Ratio (IC 95%)</b>	<b>p valor</b>
Exclusive Dedication to work on your own property (567)	Yes	79.40%	1.49 (0.95 - 2.35)	0.083
	No	20.60%		
Income per capita (525)	Low Income (> \$5)	74.14%	2.58 (1.50 - 4.44)	0.001
	It is not low demand	25.86%		
Social Class (525)	Class E (Up to 2 Minimum Wages)	30.36%	0.45 (0.30 - 0.67)	0.000
	Class D (From 2 to 4 Minimum Wages)	68.69%		
	No Income	0.95%		
Schooling (568)	Illiterate	5.10%	0.55 (0.34 - 0.89)	0.016
	Fundamental Incomplete	50.97%		
	Complete Fundamental	17.40%		
	High school	23.73%		
	Superior	2.81%		
	Own vegetable garden (541)	Yes		
No	19.56%			
Varieties of cultivars (546)	Up to 5	19.04%	1,01 (0.94 - 1.07)	0,711
	6 to 10	59.71%		
	Above 10	21.25%		
Source of social support (544)	Yes	74.13%	1,33 (0.86 - 2.06)	0,196
	No	25.87%		

---

		0,71 (0.48 - 1.05) 0,087
Receive some government benefit/help (561)		
	Yes	44.66%
	No	55.34%
Place where you buy your food (540)		0.60 (0.34 - 1.07) 0.082
	Grocery / market	10.93%
	Supermarket / hypermarket	89.07%
Stopped buying some usual food because of the price (534)		1.76 (1.18 - 2.62) 0.005
	Yes	55.99%
	No	44.01%

---

**Table 4** - Health conditions reported by family farmers in Caparaó Capixaba.

<b>Feature</b>	<b>Classification</b>	<b>Total in%</b>	<b>Odds Ratio (IC 95%)</b>	<b>p valor</b>
General self-reported health status (545)			1.70 (1.15 - 2.52)	0.008
	Good/very good	52.01%		
	Regular/bad/very bad	47.99%		
Number of reported symptoms and/or diseases (569)			1.03 (1.00 - 1.07)	0.013
	1 to 10	49.47%		
	11 to 20	39.47%		
	21 to 33	11.05%		
Methylation of BDNF (156)			2.51 (1.29 - 4.88)	0.007
	Yes	39.10%		
	No	60.90%		
Depressive symptoms (567)	Yes	17.11%	1.38 (0.85 - 2.25)	0.200
	No	82.89%		
Previous liver disease (567)	Yes	10.50%	2.19 (1.25 - 3.84)	0.006
	No	89.50%		
Medicines for continuous use (434)			0.61 (0.39 - 0.95)	0.029
	Yes	42.30%		
	No	57.70%		
Back pain prevents work activity (547)			0.49 (0.33 - 0.72)	0.000
	Yes	41.79%		
	No	58.21%		
Self-perceived health risk from work activity (541)			0.92 (0.61 - 1.41)	0.727
	Yes	64.76%		
	No	35.24%		
Body mass index (433)			1.05 (1.01 - 1.10)	0.022
	Low weight	2.10%		
	Eutrophic	48.72%		
	Overweight	31.70%		
	Obese	17.48%		

**Table 5** - Activities related to the lifestyle of family farmers in Caparaó Capixaba

<b>Feature</b>	<b>Classification</b>	<b>Total in%</b>	<b>Odds Ratio (IC 95%)</b>	<b>p valor</b>
Do some leisure activity (466)			1.47 (0.94 - 2.29)	0.092
	Yes	38.20%		
	No	61.80%		
Tobacco (554)			0,98 (0.73 - 1.32)	0,923
	Smokes currently	9.55%		
	Previously smoked	18.02%		
	Never smoked	72.43%		
Alcoholic beverages (259)			1,29 (1.03 - 1.61)	0,023
	Drinks currently	42.73%		
	Does not drink currently	21.54%		
	Never drank	35.73%		
Use pesticide (554)			1,16 (0.61 - 2.22)	0,633
	Yes	90.09%		
	No	9.91%		
Types of Pesticides- GLYPHOSATE (532)	Yes	80.11%	1.12 (0.68 - 1.84)	0.662
	No	19.89%		
FLUTRIAFOL (494)	Yes	32.19%	0.70 (0.45 - 1.09)	0.112
	No	67.81%		
THIAMETHOXAM (491)	Yes	24.03%	0.45 (0.29 - 0.73)	0.001
	No	75.97%		
OXYCHLORIDE COPPER- PESTICIDES (486)	Yes	2,26%	2.79 (0.84 - 9.35)	0.094
	No	97,74%		

**Table 6 - Biochemical blood tests of family farmers in Caparaó Capixaba**

Feature	Total in%	Odds Ratio (IC 95%)	p valor
Serum Cortisol (207)		0.99 (0.48 – 2.05)	0.974
Above	9.64%		
Normal	90.33%		
D Vitamin (25-hydroxicalciferol) (207)		0.63 (0.26 – 1.83)	0.461
Deficient	8.21%		
Normal	97.79%		
Total Proteins (362)		1.32 ( 0.66-1.88)	0.473
Deficient	11.87%		
Normal	88.13%		
Albumin (360)		1.19 (0,43 – 3.33)	0.732
Deficient	6.40%		
Normal	93.60%		
Total cholesterol (341)		0.81 (0.52 -1.28)	0.380
High	1.66%		
Normal	98.44%		
Glycemia (363)		0.68 (0.35 – 1.30)	0.246
High/altered	13.77%		
Normal	86.33%		
GT range (363)		0.78 (0.34 – 1.73)	0.521
High/altered	10.46%		
Normal	89.54%		
Transaminase Glutamic Oxalacetic (TGO) (363)		0.78 (0.31 – 2.31)	0.621
High/altered	7.71%		
Normal	92.29%		
Pyruvic Glutamic Transaminase (TGP) (363)		1.64 (0.59 – 4.59)	0.338
High/altered	4.68%		
Normal	95.32%		

## Multivariate logistic regression analysis of food insecurity variables

Table 7 shows the multivariate regression analysis, which shows the association (28.68%) of the occurrence of INSAN.

**Table 7** - Multivariate logistic regression using backward modeling of family farmers of Caparaó Capixaba

Feature	Adjusted Odds Ratio (95% CI)	P value
BDNF methylation	5.03 (1.98 – 12.83)	0.001
Property size in hectare	0.77 (0.67 – 0.90)	0.001
Extra work outside your property	3.36 (1.23 – 9.22)	0.018
Number of reported symptoms and/or diseases	1.12 (1.04 – 1.20)	0.003

## DISCUSSION

This study contributes significantly to our current knowledge of epigenetic biomarkers and demonstrates the potential use of BDNF methylation to predict behavioral vulnerability induced by life adversities such as INSAN. This is the first such study to investigate INSAN on family farmers, associating epigenetic and socio-environmental mechanisms among their determinants.

The high prevalence of INSAN (23.68%) in the studied region stands out, as it is 128% higher than that of Espírito Santo (10.40%) as a whole. When considering only rural populations, the region studied was 1.28 times higher in INSAN than the southeast Brazilian region (18.6%) and 3.17 fold higher than the state of Espírito Santo (7.5%) [28].

The contribution of environmental factors to changes in DNA methylation that are related to behavioral diseases has drawn attention [29]. Our results reinforce these findings, because they show an association of INSAN with pathological methylation of the promoter for exon I of the BDNF gene, which has been linked to behavioral disorders such as depression and bulimia nervosa [30].

The concentration of land, low economic returns, and greater reporting of symptoms/diseases in individuals, partially correlate with INSAN, which, as stated before, is associated with the methylation of the BDNF gene.



### **INSAN and number of symptoms and/or diseases reported**

The people reporting the largest number of symptoms and/or diseases also had higher scores for INSAN, Adjusted Odds Ratio (ORa) 1.12 (95% CI 1.04 to 1.20). Every symptom and/or reported illness increased by 12% the chance of co-occurrence of INSAN.

In the region studied, 17.11% of producers reported depression, and 47.99% self-rated health status as very bad, bad, or regular. The percentage of respondents who reported 11-33 diseases or symptoms was 50.53%, whereas 49.47% reported 10 or fewer symptoms. The most frequent complaints were muscle pain (64.73%), headache (62.08%), back pain (58.14%), muscle cramps (55.03%), eye irritation (52.38%), joint pain (50.44%), overweight/obesity (49.18%), dizziness and lightheadedness (48.22%), abdominal pain (44.27%), cough (42.68%), and turbid vision (38.62%). Unsustainable practices while working in agriculture contribute to INSAN [31].

### **INSAN and BDNF gene exon I promoter methylation**

In animal models exposed to Bisphenol A, scientists have already suggested that BDNF methylation in blood can be used as a predictor of methylation and gene expression of brain BDNF as well as behavioral vulnerability induced by early environmental exposure [32], which may make the methylation of blood BDNF a new biomarker for the early detection of psychopathology.

Brain health is affected by a sophisticated network of interactions between multiple genetic and environmental factors [13]. Stressors related to INSAN, such as the interruption of regular and permanent access to food, the implementation of practices that denigrate health (widespread use of pesticides), low income, and the large number of health complaints correlated positively with methylation of the promoter of exon I of the BDNF gene. These findings allocate the farmers of the present study to a position of social exclusion, which is associated with the alteration of the neural plasticity causing neurometabolic modifications in patients with low concentration of BDNF [33].

Methylation also showed a close relationship with INSAN, ORa 5.03 (95% CI 1.97 to 12.82). The effects of nutrition on the brain are primarily mediated by changes in gene expression. These changes have many and varied characteristics that can be dynamic

and short-term, stable and long-term, and even with possibility of inheritance for the next generations [34-35-36]

The rural worker lifestyle associated with low education may contribute to epigenetic changes in BDNF. The adverse effects of strenuous exercises are related to increased reactive oxygen species, reduced BDNF expression, and impaired synaptic plasticity and cognition [37]. Another factor linked to increased methylation of exon I of BDNF, and found in 17% of the farmers of this work, is depressive symptoms, the epigenetic dysregulation may lead to reduced neurogenesis and damage to neuronal plasticity [20-38], These changes may persist into adulthood in hippocampal tissues [39].

### **INSAN and extra work out of one's own property**

It was noted that the workers, even with additional work out of their property, were more likely to be in a position to report INSAN, ORa 3.36 (95% CI 1.23 to 9.21). This type of activity, which includes the exchange of days of service, is sporadic and does not generate an employment bond favoring the situation of poverty. The data presented showed the occurrence of low income and INSAN even in the presence of social support of complementation of government income (*bolsa familia*), linkage to unions and cooperatives and extra work.

The INSAN situation is a marker of inequality in the economic system, and is associated with poverty and social inequality. Therefore, estimates of poverty and social inequality may be used in a complementary way - for the prediction of INSAN [40-41].

Despite being more frequent in poor countries, INSAN also appears in 5 to 10% of the homes of developed nations. Between 2007 and 2008 the prevalence in France, United States of America, and Canada were 12.2, 14.5 and 7.7% respectively [42]. In 2013-14, the Trussell Trust, a European network of food banks, provided emergency food aid to more than 900,000 adults and children. Greek, Spanish and French organizations also reported an increase in the number of people seeking emergency food support [43].

In this study, 74.14% of farmers reported having income per capita per day less than \$5 US dollars, and were classified as low income [24]. These data are reminiscent of the rural northeast region, where most of the rural poverty in Brazil is located (53%) [2].

The results presented in this study corroborate data obtained using the Municipal Human Development Index (IDHM) average, which has income as an indicator. The United Nations Development Programme reported that the average IDHM for the region studied here was 0.665, classified as "medium human development", compared to the value of 0.740 (high human development) found for the state of Espírito Santo [44].

Although the high rate of low income found in this work is worrying, Brazilian government data shows that, in recent years, the population has improved its performance. Overall, the rate of extreme poverty in the rural population decreased from 21.8% in 2002 to 7.6% in 2014, representing a decrease of 65.2%; and poverty was reduced from 49% in 2002 to 20.2% in 2014, a decrease of 58.7% [5].

In addition to low income, the instability of market prices at the producer level is also a major issue. Family farmers face relative disadvantages, including competition from imported goods and the fact that large producers have benefited from subsidies in the past and retain the benefits of privileged access to services and marketing channels [45].

Farmers who did extra work out of their own property had a 336% higher chance of experiencing INSAN (ORa = 3.36). Lower levels of education also contribute to a greater likelihood of INSAN [46]. This corroborates other findings [47] associating the low socioeconomic status of Brazilian rural households with less purchasing of healthy foods and greater acquisition of lower cost food with lower nutritional quality.

### **INSAN and property size**

The spatial dimensions of most rural properties of the family farmers in the study did not provide a guarantee of subsistence and social and economic progress (Law 4504/64). This represents a failure in regards to the concept of Human Rights to Adequate Food (HRAF) [31]. The situation found in this study, showing a link between property dimensions is related to the broader issue of the concentration of land ownership in Brazil, as well as the effects of conflict and exclusion in the field on rates of INSAN [48].

In this study, the small size of many family farms, in terms of possession and use, were too small to provide food and nutrition security. If a fiscal module (approximately 21.6 hectares) is the minimum fraction of land to qualify as family farm [49], then more than 90% of the farmers had a property area deficit. According to our data, an increase

in the size of land ownership/use of one hectare correlated with a decrease of 23% (ORa = 0.77) in the chance of developing INSAN, among family farmers in Capixaba Caparaó.

Therefore, even taking into account the social progress achieved in Brazil over the past 15 years, with the success of various public policies, there are large discrepancies between social classes in the countryside, as found in this study. In general, to ensure the promotion of family farming ensures the reduction of poverty and inequality in rural areas, greater diversification in food production, strengthening of the food supply in remote locations, and the consequent promotion of local economies.

Thus, land reform, especially in countries where it has not been done or has been interrupted, could be a key means of reducing INSAN. Land reform provides a favorable impact on SAN, mainly because it generates employment and income, thus increasing access to nutritious foods [31].

Therefore, understanding the underlying mechanisms linking nutrition, genes and brain will allow them to make future recommendations for better nutrition and brain health.

### **Study limitations**

The data are transverse and therefore causality and its direction cannot be inferred from this study design.

The use of the Brazilian Food Insecurity Scale (EBIA) causes a selection bias introduced by the fact that only people who had a sense of lack of food in the last three months could be included in the sample. Therefore, there was an under-representation of the history of food insecure people. This means that the study is likely to have underestimated the true prevalence of food insecurity in Caparaó.

### **CONCLUSIONS:**

INSAN is a major problem for rural workers. A prevalence of 23.68% of INSAN among the families of farmers in Caparaó Capixaba was observed. The socioeconomic profile of the population studied was marked by low levels of education and low per capita income. The occurrence of methylation of exon I of BDNF, possession of a small fraction of land, the largest number of symptoms and/or related diseases, and the need to work off their property because of low income correlate with the prevalence of INSAN.

Adaptation to sustainable working practices is necessary to improve food safety and the health. of the small family grower.

### **List of Abbreviations**

INSAN: Food and Nutritional Insecurity; SAN: Food and Nutrition Security; IBGE: Brazilian Institute of Geography and Statistics; FAO: Food and Agriculture Organization; DHAA: Human Right to Adequate Food; BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor; BMI: Body Mass Index; MS-PCR: Methyl Specification Polymerase Chain Reaction; PNAD: National Survey by Sample of Domicile; PPSUS: Project for the Unified Health System; EBIA: Brazilian Food Insecurity Scale; IFES: Federal Institute of Espírito Santo; CNS: National Health Council; TCLE: Consent Form Free and Informed; WHO: World Health Organization; IDHM: Municipal Human Development Index; MDS: Ministry of Social Development and Fight against Hunger; INCRA: National Institute of Agrarian Reform

### **REPRESENTATIONS**

#### **Thanks**

We want to thank all participants of the study and scholarship and student volunteers. Especially to colleagues: Suzzany Mendes, Anderson Barros, Joaquim Gasparini, Mayara Mota, Camila David, Leticia Paramnhani Romao, Juliana Kruger, Alcemi Barros, Diego Lacerda, Erika Silva, Leonardo Trivilim, Flavia Moraes Motta, Gabriele Peterly and Lucas Maia.

#### **Funding**

It was covered by the State of Espírito Santo Research Foundation (FAPES) along with the Ministry of Health of Brazil.

**Availability of data and material**  
data can be accessed by the corresponding author at the address:  
[wagmiranda@gmail.com](mailto:wagmiranda@gmail.com)

#### **Authors' contributions**

WMB conducted the study, through reviews, interpretations, and writing and submitting the article. CCJA, FVF, CC, AB and JD contributed in the collections and laboratory procedures. LDC provided statistical expertise. JBPS and AMAS contributed to the

elaboration and critical review of the manuscript. All authors read and approved for this manuscript to be published.

**Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

**Consent for publication**

Not applicable.

**Ethical approval and consent to participate**

Ethical approval was obtained from the Ethics Committee on Health Human Research of the Federal University of Espirito Santo under number 662550. Participation in the study was voluntary. The consent form was attached to each questionnaire and interview before each study participant gave his consent.

## BIBLIOGRAFIA

1. BACHA, E. L. Os mitos de uma década: ensaios de economia brasileira. Paz e Terra, 1976. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=E0A-AAAAYAAJ> >.
2. CENSO, I. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Fornecido em meio eletrônico: [[www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/)] v. 20, n. 03, p. 2012, 2010.
3. Schneider, S. A presença e as potencialidades da Agricultura Familiar na América Latina e no Caribe. *Redes*. 2016;21(3):11-33.
4. BORGES, V. J.A.; OLIVEIRA, L.R.; . Balanço Social 2014 Incaper / Organizadores, - 2 ed. - Vitória, ES : Incaper, 2015. 72 p. : il. - (Incaper. Documentos, 236). ISSN 1519-2059: <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/1033/1/BRT-balancosocial2014-incaper.pdf>
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Superação da fome e da pobreza rural iniciativas brasileiras. Brasília: FAO; 2016
6. BRASIL. Lei 11 346/2006. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2006/lei/l11346.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11346.htm)
7. Scelza. B.A. Food scarcity, not economic constraint limits consumption in a rural Aboriginal community. *Aust J Rural Health*. 2012;20(3):108-12.
8. Melchior, M.; Caspi, A.;Howard, L. M.;Ambler, A. P.; Bolton, H.;Mountain, N.;Moffitt, T. E. Mental health context of food insecurity: a representative cohort of families with young children. *Pediatrics*, v. 124, n. 4, p. e564-72, Oct 2009. ISSN 1098-4275. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786424> >.
9. Leung, C. W., Epel, E. S.;Willett, W. C. ;Rimm, E. B. Laraia, B. A.. Household food insecurity is positively associated with depression among low-income supplemental nutrition assistance program participants and income-eligible nonparticipants. *J Nutr*. 2015; 145,(3),622-7.
10. Davison, K.M., Marshall-Fabien, GL, Tecson A. Association of moderate and severe food insecurity with suicidal ideation in adults: national survey data from three Canadian provinces. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.*; 2015; 50(6):963-72.
11. Valente, F.L.S. Direito humano à alimentação: desafios e conquistas, in *Direito humano à alimentação: desafios e conquistas*. Cortez:2002.

12. Kim, D.H. The interactive effect of methyl-group diet and polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase on the risk of colorectal cancer. *Mutat Res.*, 2007;.622(1-2):14-8.
13. Dauncey, M., Recent advances in nutrition, genes and brain health. *Proc Nutr Soc.*, 2012;.71(4):581-91.
14. Esteller, M., DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. *Curr Opin Oncol.*, 2005;.17(1):55-60.
15. Hou, L.; Zhang, X.; Wang, D.; Baccarelli, A., Environmental chemical exposures and human epigenetics. *Int J Epidemiol.* 2012;41(1):79-105.
16. Rodríguez Dorantes, M.; Ascencio, N.T.; Cerbón, M.A.; López, M.; Cervantes, A., Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. *Revista de Investigación Clínica.*, 2004;.56:56-71.
17. Bockmühl, Y.; Patchev, A. V.; Madejska, A.; Hoffmann, A.; Sousa, J. C.; Sousa, N.; Holsboer, F.; Almeida, O. F.; Spengler, D., Methylation at the CpG island shore region upregulates Nr3c1 promoter activity after early-life stress. *Epigenetics.* 2015;10(3):247-57.
18. Brunoni, A.R., Lopes M., Fregni F., A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol.*, 2008;.11(8):1169-80.
19. D'Addario, C.; Dell'Osso, B.; Galimberti, D.; Palazzo, M. C.; Benatti, B.; Di Francesco, A.; Scarpini, E.; Altamura, A. C.; Maccarrone, M. Epigenetic modulation of BDNF gene in patients with major depressive disorder. *Biol Psychiatry.*, 2013;. 73(2): e6-7.
20. Martinowich, K., Manji H, Lu B., New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci.*, 2007;.10(9): 1089-93.
21. Pryor, L.; Lioret, S.; van der Waerden, J.; Fombonne, É.; Falissard, B.; Melchior, M. Food insecurity and mental health problems among a community sample of young adults. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2016;51(8): 1073-81.
22. Bojanic, A. J.; França, C. G.; Marques, V. P. M. A.; Del Grossi, M. E. Superação da fome e da pobreza rural: iniciativas brasileiras. 2016
23. Neri, M.C., A nova classe média. Rio de Janeiro: FGV/Ibre, CPS; 2008.
24. World Health Organization., Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization: 2000.
25. Triola, M.F., Introdução á estatística. LTC: 2008.
26. Salazar, L. A.; Hirata, M. H.; Cavalli, S. A.; Machado, M. O.; Hirata, R. D. Optimized procedure for DNA isolation from fresh and cryopreserved clotted



- human blood useful in clinical molecular testing. *Clin Chem.* 1998;44(8 Pt 1): 1748-50.
27. D'Addario, C.; Dell'Osso, B.; Palazzo, M. C.; Benatti, B.; Lietti, L.; Cattaneo, E.; Galimberti, D.; Fenoglio, C.; Cortini, F.; Scarpini, E.; Arosio, B.; Di Francesco, A.; Di Benedetto, M.; Romualdi, P.; Candeletti, S.; Mari, D.; Bergamaschini, L.; Bresolin, N.; Maccarrone, M.; Altamura, A. C., Selective DNA methylation of BDNF promoter in bipolar disorder: differences among patients with BDI and BDII. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37(7): 1647-55.
  28. I.J.S.N. Instituto Jones dos Santos Neves. Segurança Alimentar no Espírito Santo, a partir da Pnad 2013. 2015: <http://www.ijsn.es.gov.br/artigos/4303-seguranca-alimentar-no-espírito-santo> access in 05-05-2013
  29. Koenen, K. C.; Uddin, M.; Chang, S. C.; Aiello, A. E.; Wildman, D. E.; Goldmann, E.; Galea, S., SLC6A4 methylation modifies the effect of the number of traumatic events on risk for posttraumatic stress disorder. *Depression Anxiety.*, 2011;.28:639-47
  30. Thaler, L.; Gauvin, L.; Joober, R.; Groleau, P.; de Guzman, R.; Ambalavanan, A.; Israel, M.; Wilson, S.; Steiger, H. Methylation of BDNF in women with bulimic eating syndromes: associations with childhood abuse and borderline personality disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014. 54: p. 43-9.
  31. Wilde, P.E, Peterman J.N., Individual weight change is associated with household food security status. *J Nutr.*,2006;.136:1395-400.
  32. Kundakovic, M.; Gudsnuk, K.; Herbstman, J. B.; Tang, D.; Perera, F. P.; Champagne, F. A. DNA methylation of BDNF as a biomarker of early-life adversity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015. 112(22): p. 6807-13.
  33. Frischknecht, U.; Hermann, D.; Heinrich, M.; Hoerst, M.; Weber-Fahr, W.; Vollstädt-Klein, S.; Kiefer, F.; Mann, K.; Ende, G., Experience of social discrimination correlates with neurometabolism: a pilot study in heroin addicts. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 2013. 263(3): p. 197-203.
  34. Dauncey, M.J., New insights into nutrition and cognitive neuroscience. *Proc Nutr Soc.*, 2009;. 68: 408-15.
  35. Roth, T.L., et al., Lasting Epigenetic Influence of Early-Life Adversity on the BDNF Gene. *Biological Psychiatry*, 2009. 65(9): p. 760-769.
  36. Babenko, O.; Kovalchuk, I.; Metz, G. A., Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015. 48: p. 70-91.
  37. Erickson, K.I, Miller, D.L., Roecklein K.A., The aging hippocampus: interactions

- between exercise, depression, and BDNF. *Neuroscientist.*, 2012;.18: 82-97.
38. Vaiserman, A., Epidemiologic evidence for association between adverse environmental exposures in early life and epigenetic variation: a potential link to disease susceptibility? *Clin Epigenetics*, 2015. 7: p. 96.
39. Nemoda, Z.; Massart, R.; Suderman, M.; Hallett, M.; Li, T.; Coote, M.; Cody, N.; Sun, Z. S.; Soares, C. N.; Turecki, G.; Steiner, M.; Szyf, M., Maternal depression is associated with DNA methylation changes in cord blood T lymphocytes and adult hippocampi. *Transl Psychiatry*, 2015. 5: p. e545.
40. Silva, J.G., del Grossi M. E., de França C.G., Fome Zero: a experiência brasileira. Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2010.
41. Morais, D. de C.; Dutra, L. V.; Franceschini, S. C. C.; Priore, S. E., Insegurança alimentar e indicadores antropométricos, dietéticos e sociais em estudos brasileiros: uma revisão sistemática. *Ciência & Saúde Coletiva.*, 2014;.19: 1475-88.
42. Bocquier, A.; Vieux, F.; Lioret, S.; Dubuisson, C.; Caillavet, F.; Darmon, N., Socio-economic characteristics, living conditions and diet quality are associated with food insecurity in France. *Public Health Nutr*, 2015. 18(16): 2952-61.
43. Loopstra, R.; Reeves, A.; Stuckler, D. Rising food insecurity in Europe. *The Lancet*. 385(9982): 2041.
44. PNUD. Índice de Desenvolvimento Humano Municipal Brasileiro. – Brasília: PNUD, Ipea, FJP, 2013. 96 p. – (Atlas do Desenvolvimento Humano no Brasil 2013). 1.:<http://www.atlasbrasil.org.br/2013/pt/consulta/> Accessed 29 Aug 2016.
45. Buainain, A.M., Romeiro, A.R.,Guanziroli, C., Agricultura familiar e o novo mundo rural. *Sociologias.*, 2003;.5.
46. McGregor J. Climate change and involuntary migration: implications for food security. *Food Polic.*, 1994;.19:120- 32.
47. Mondini, L.; Rosa, T. E.; Gubert, M. B.; Sato, G. S.; Benício, M. H. D., Insegurança alimentar e fatores sociodemográficos associados nas áreas urbana e rural do Brasil;.2011.
48. Bergamim, M.C, Campos Jr C.T. Agricultura familiar no Espírito Santo: concentração fundiária e recomposição socioeconômica. in *Anais. XLIII Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural*. 2005
49. INCRA. Índices Básicos por municípios. Sistema Nacional de Cadastro Rural, 2013.  
[http://www.incra.gov.br/sites/default/files/uploads/estruturafundiaria/regularizacao-fundiaria/indices-cadastrais/indices\\_basicos\\_2013\\_por\\_municipio.pdf](http://www.incra.gov.br/sites/default/files/uploads/estruturafundiaria/regularizacao-fundiaria/indices-cadastrais/indices_basicos_2013_por_municipio.pdf). Accessed 25 Aug 2016.

#### **4. Capítulo 02 – Artigo submetido a revista “Science of the Total Environment”**

**Title: Increased Beck Depression Inventory score among coffee growers pesticide applicators in Brazil.**

##### **Authors**

Catarine Lima Conti<sup>1</sup>

Wagner Miranda Barbosa<sup>1</sup>

João Batista Pavesi Simão<sup>2</sup>

Adriana Madeira Álvares da Silva Conforti<sup>1</sup>

##### **Affiliation**

<sup>1</sup>Program of Post-Graduation in Biotechnology/Renorbio, Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES, Brazil.

<sup>2</sup>Coordination of Technology and Coffee Growing Course, Federal Institute of Espírito Santo, Alegre, ES, Brazil.

##### **Corresponding author**

Catarine Conti, Ph.D.

Departamento de Biologia, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde,  
Universidade Federal do Espírito Santo.

Alto Universitário, S/N, Caixa Postal 16  
29500-000 Alegre, ES, Brasil

e-mail: catarineconti@hotmail.com

Fax: +55-27-3552-8991

Tel: +55-27-3552-8903

**Abstract:**

The extensive use of pesticides has been followed by increasing concerns about their potential acute and chronic effects in general and mental health. Brazil is the greatest pesticides consumer in the world since 2008. Several studies describe the association between the pesticides toxicity and psychiatric disorders, especially depression, but efforts are needed to corroborate these studies. Here, we compared the Beck depression scores between users and non users of pesticide from the Caparaó Capixaba region of southeast Brazil. The aim was to investigate if the use of pesticides is associated with depression in this region. Besides, we aimed to map the region according to the percentage of people that apply pesticides in the tillage from each rural community included in this study to further correlate this data with the percentage of workers with high beck depression score on that community. A total of 191 male rural workers from thirteen different communities distributed among seven different cities of this region completed both the Beck Depression Inventory II and questions about pesticides use. Initially, we found that the group of pesticide applicators have greater amount of subjects with high beck score when compared with the group of non-pesticide users. Additionally, according to the mapping of the region, the percentage of rural workers with high beck score in a given community is significantly correlated with the percentage of pesticide use on that place. Together, these data offer an expanded view and more reliable information about the increased incidence of depressive symptoms among male pesticide applicators in a coffee-growing region from Brazil.

**Keywords:** depression, BDI, rural worker, pesticide, coffee growing.

**1. Introduction**

In the rural zone, the work and life conditions are very precarious. Still, the monoculture practiced in the world of agribusiness is an important source of distress and illness (Scopinho, 2010). Summed to these factors, pesticides exposure is widely known to be a relevant environmental health issue in rural communities with agricultural activity (Arcury et al., 2006; Coronado et al., 2011; Hiott et al., 2006). In Brazil, a country with enormous amount of rural workers, this problem is of great relevance once it has been the larger consumer of pesticides in the world since 2008; the consumption increased

190% over the last decade, significantly above the average of global increase of 93% (ANVISA, 2011). Still, Brazil is the largest coffee-producing nation in the world and historically, for over 150 years, it has been the highest global producer of coffee beans (USDA, 2016). The Caparaó Capixaba region included in the present study belongs to the state of Espírito Santo where the coffee growing is the main and most traditional agricultural activity and it represents the second largest coffee producer in Brazil and the first in *Robusta* production (Cetcaf, 2014; USDA, 2016). The state of Espírito Santo has the highest rate of poisoning by pesticides in Brazil (Brazil-Health-Ministry, 2015) and these numbers strongly conduct to researches on the consequences of pesticides use for health not only here, but for rural workers in general.

Several studies have related the association between the toxicity of the pesticides and the onset of psychiatric conditions, especially depression among rural workers and residents (Beseler and Stallones, 2013; London et al., 2012a; London et al., 2005; Stallones and Beseler, 2002; Stallones and Beseler, 2016; Wesseling et al., 2010). Researches from Brazil (Meyer et al., 2010), Spain (Parron et al., 2011) and USA (Beseler and Stallones, 2008) identified the relation between pesticide exposure and psychiatric disorders. The indiscriminate use of pesticides is leading to concerns about their potential acute and chronic effects in general, particularly, in mental health.

Mood disorders including depression are at the most present psychiatric disorders in current society. It is described that major depression<sup>1</sup> affects about 16% of population once during their lifetime (Kessler et al., 2005). All symptoms of these disorders are collectively called 'depressive syndrome' and they are characterized by anxiety, feelings of guilt, long-lasting depressed mood and recurrent thoughts of death and suicide (Nestler et al., 2002).

Once the mere quiet country life or particular and lots of subjective causes or even genetic and epigenetic profile can be risk factors for depression, the real association between pesticides use and depression needs to be increasingly inspected. Here we aimed to investigate the correlation between depression and pesticides use and we reinforced the results by mapping the whole region of Caparaó included in this study. Our question was if greater cases of depression were actually within communities with greater use of pesticides.

---

<sup>1</sup> Criteria for Major Depressive Episode (DSM-V) - can be found at the site: [http://www2.nami.org/content/navigationmenu/intranet/homefront/criteria\\_major\\_d\\_episode.pdf](http://www2.nami.org/content/navigationmenu/intranet/homefront/criteria_major_d_episode.pdf)

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Subjects and ethics statement**

It was included one hundred ninety-one ( $n = 191$ ) male volunteers aged from 18 to 65. All participants are rural workers from the Caparaó Capixaba region in the southeast Brazil.

This survey was conducted according to the ethical principles established by the Ethics Committee for Research at the Center of Health Sciences, Federal University of Espírito Santo, Brazil. All participants signed the informed consent forms. This research is part of a project approved by this ethics committee under registration #50953115.3.0000.5060.

### **2.2. Beck Depression Inventory-Second Edition (BDI-II)**

The BDI-II is not a depressive disorder diagnosis tool, but rather, a self-report instrument that assesses the presence and severity of depressive symptoms in normal and psychiatric populations. It consists of 21 items that are rated on a 4-point scale ranging from 0 to 3, with higher scores indicative of more severe symptoms of depression (Jackson-Koku, 2016). It was already shown that the BDI-II is reliable and valid for measuring depressive symptomatology among Portuguese-speaking Brazilian non-clinical populations. The intraclass correlation coefficient of the BDI-II was 0.89, and the Cronbach's alpha coefficient of internal consistency was 0.93 (Gomes-Oliveira et al., 2012).

### **2.3. Data collection**

Secretary of health department from each city was contacted to provide the consent letter. Then, the head of each community was contacted to schedule a meeting in which our group would explain the project to associated subjects and get the consent

of them to participate. Few days later we came back to collect information about pesticides use and to apply the BDI-II questionnaire. The pesticides form was applied by trained students and professionals of the University while the Beck form was applied only by one or at most two trained persons to minimize bias. All collected data were digitalized using the program EPI-INFO 7 and Microsoft Excel (version 14.6.0) for posterior analysis.

## **2.4. Statistical analyses**

Chi-square test was performed to investigate the correlation between the two categories: pesticides use and Beck score. Depressive symptoms according to the BDI-II score were divided into: low Beck score (up to 10) - according to consensual parameter for ups and downs considered normal for both rural and Brazilian population (Latchac et al., 2010; Levandovski et al., 2011) - and high Beck score (greater than 10). Moreover, mapped correlation was performed to study the relationship between percentage number of people with high Beck score in a given community (y) and the percentage of people that related pesticides use on that community (x). Chi-Square value and Pearson's correlation coefficient were provided and a p-value < 0.05 was considered statistically significant. GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA) was employed for statistical analyses and graphic presentations.

## **3. Results**

One hundred ninety-one male volunteers fulfilled a form including questions about pesticides use and all of them responded to Beck depression inventory-II. They are residents and workers from Caparaó Capixaba, a predominantly coffee growing region in the southwest of Espírito Santo. The distribution of the whole sample by city and community and information about pesticides use are exposed in the table 1. Briefly, male rural workers were distributed among seven different cities, in specifically thirteen communities from the rural zone of these cities; pesticides users were the majority of the sample (63.9%) and the herbicide glyphosate is by far the most common pesticide used by those applicators in the tillage – 85.2% of pesticide applicators related its use. The

pesticide applicators related four main types of pesticides they use in agriculture; their characteristics are expressed in the table 2.

**Table 1.** Distribution of the sample composed by rural workers from Caparaó Capixaba region (N = 191) and distribution of main pesticide types the pesticide applicators related in the interview.

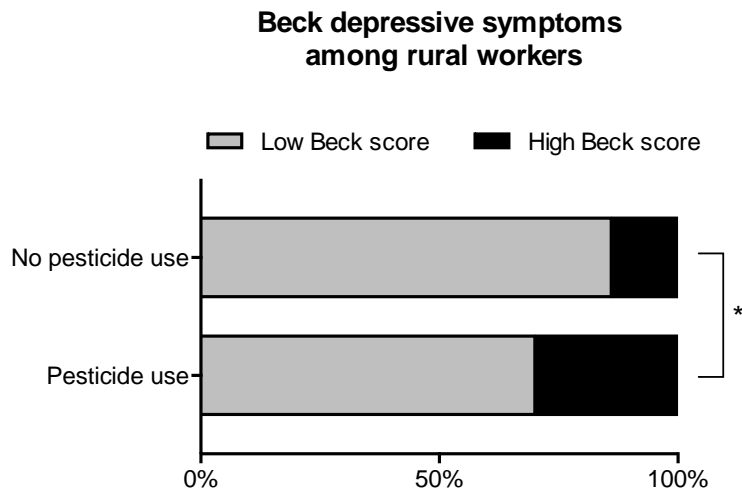
	N (%)		N (%)
<b>City distribution</b>		<b>Community distribution</b>	
Alegre	44 (23.0)	Feliz Lembrança	26 (13.6)
		Santa Luzia	10 (5.2)
		Lagoa	8 (4.2)
Dores do Rio Preto	17 (8.9)	Pedra Menina	17 (8.9)
Guaçuí	15 (7.9)	Córrego do Patrimônio	7 (3.7)
		Córrego São Felipe	8 (4.2)
Ibatiba	54 (28.3)	Santa Clara	16 (8.4)
		Córrego Perdido	22 (11.5)
		Cambraia	16 (8.4)
Ibitirama	17 (8.9)	Santa Rita	17 (8.9)
Irupi	19 (9.9)	Santa Rosa	19 (9.9)
Jerônimo Monteiro	25 (13.1)	Mineroduto	9 (4.7)
		Andorinhas	16 (8.4)
<b>Use of pesticide</b>			
Yes	122 (63.9)		
No	69 (36.1)		
<b>Pesticide</b>			
Glyphosate	104 (85.2)		
Flutriafol	36 (29.5)		
Cyproconazole	25 (20.5)		
Thiamethoxam	19 (15.6)		

**Table 2.** Characteristics of main pesticides related by pesticide applicators from Caparaó Capixaba region.

Name or active ingredient	Class	Chemical name	Empirical formula
Glyphosate	herbicide	N-(phosphonomethyl)glycine	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P
Flutriafol	fungicide	(RS)-2,4'-difluoro-a-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) benzhydryl alcohol	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O
Cyproconazole	fungicide	(2RS,3RS;2RS,3SR)-2-(4-chlorophenyl)-3-cyclopropyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O
Thiamethoxam	Insecticide	3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S



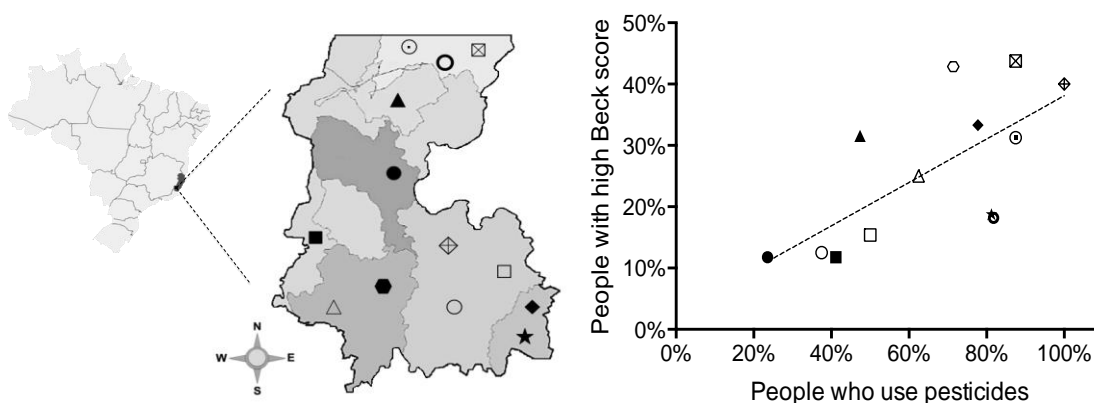
After dividing BDI scores into two categories, the relationship between high or low depressive symptoms and the use or not of pesticides in the whole sample was evaluated. Chi square test showed significant difference between theoretically expected and observed frequencies in each category (no pesticide use: 14.49% high Beck score, 85.51 low Beck score; pesticide use: 29.51% high Beck score, 70.49% low Beck score;  $\chi^2 = 5.435$ ;  $p = 0.0197$ ; figure 1).



**Figure 1.** The amount of rural workers with high Beck score is greater among pesticide users from Caparaó Capixaba region, a growing coffee region in the Southeast Brazil. Chi square test,  $n = 191$ , no pesticide use = 69; pesticide use 122; low Beck score = 145; high Beck score = 46;  $\chi^2 = 5.435$ ; \* $p = 0.0197$ ).

For subsequent analysis, the whole sample was divided per community and the amount of people with high Beck score in each community was correlated with the amount of people who reported applying pesticides in the tillage. The analysis showed a moderate positive correlation between these two variables separated by community. This mapped analysis demonstrated that regions with higher amount of pesticide applicators has, in fact, higher amount of people with high beck score (number of communities = 13; Pearson  $r = 0.691$ ;  $p = 0.0089$ ; figure 2).

## Map of depression X pesticide use in each community



**Figure 2.** Mapping of positive correlation between quantity of people with high Beck score and people who use pesticides among rural communities (number of values = 13; Pearson correlation;  $r = 0.691$ ;  $**p = 0.0089$ ).

## 4. Discussion

Here we demonstrated that high Beck depression score is associated with the use of pesticides by coffee growers from Caparaó Capixaba region of southeast Brazil, country which is considered to be the greater pesticide user (ANVISA, 2011) and also the greater coffee producer and exporter (USDA, 2016) worldwide. Besides, an unprecedentedly mapping of the rural communities distributed throughout this region showed that increased amount of people with high Beck score in a such community is linearly correlated with increased amount of pesticide users on that community.

The presence of depressive symptoms compromise enormously the quality of life (Cruz et al., 2010) and according to the severity and intensity of those symptoms, its impact on general welfare can be up to 23 times greater relatively to other physical diseases (Williams et al., 1995). Depression changes the way one sees the world, perceives reality, comprehend things and expresses emotions. Thus, it is considered a disease that affects the whole body and the human being in its entirety, with no possibility of fragmentation between the biological, mental and social issues (Camon, 2001).

Faria *et al* described that pesticide poisoning was strongly associated with minor psychiatric disorders, emphasizing the dimension of the problem and the importance of adopting new policies for the protection of farm workers' mental health (Faria et al., 1999). Concrete evidences show higher numbers of hospitalization due to mood disorder and suicide attempt among residents in areas with higher use of pesticide (Meyer et al.,

2010). On the other hand, controversies can be observed in these kinds of studies because of hard physical labor, excessive stress and mental suffering intrinsic to the labor in the countryside as consequences of losses in production for example (London et al., 2012b; Wesseling et al., 2010). Aware that not only intense exposure to pesticides but also occupational exposure in agriculture can work as risk factors for mental health impairment, studies aiming to investigate real association between depression and pesticides use are encouraged in different conditions. Defining the direction of the causal link of pesticides use and psychiatric conditions is a great challenge.

Neurological impairments seem to be associated with the toxicity of different classes of pesticides. Insecticides act as cholinesterase inhibitors (Fuortes et al., 1993; Mandour, 2013; Noro et al., 2013) and are well known to be harmful for mental health because of their proven effects associated with neurotoxicity (Rizzati et al., 2016). But, in the present study, glyphosate – most used herbicide worldwide according to WHO - was by far the most used pesticide in the tillage. It is an organophosphate compound that has been controversially related to not affect the nervous system at the same intensity that other organophosphorus, however, It has already been described that several herbicides, including glyphosate, may also have important neurotoxic effects (Li et al., 2014; Menendez-Helman et al., 2012; Roy et al., 2016). An important research that investigated especially depressive symptoms in relation to pesticide exposure is the Agricultural Health Study performed between 1993 and 1997 in USA. Among pesticide applicators of this study, the chance of depressive disorder diagnosis was higher for several classes of pesticides. Curiously, the probability for herbicides exposure was so higher than for insecticides and higher than others classes (Beseler et al., 2006).

Neurological aggravating factors of using pesticides include suicide ideation. It is assumed that suicide *per se* is affected not only by depression but also by personality and behavioral traits as hostility and impulsivity. However, Pickett *et al* demonstrated that the probability for suicide in a study with Canadian farmers was not higher for insecticides use alone but 71% higher for insecticides combined to herbicides use when compared with those who not pulverized these products (Pickett et al., 1998).

Limitations of this study include the lack of data analysis for different classes of pesticides and the sample size. As 85% of the subjects related the use of glyphosate, and the second most used pesticide is the flutriafol - related by less than 30%, the sample needs to be greater for this kind of analysis and others. This is the first study of the region on this issue of pesticides use and mental health though many other projects are evaluating the health of rural workers in general and new resources will allow the

expansion of such researches. Future perspectives include expanding the project in the region and also to promote intervention actions based on these diagnoses to improve the quality of life of rural workers and their families. Because of the relevance of Espírito Santo and, in larger scale Brazil, in the global scenario of agriculture for decades, it is assumed that these data will conduct a continuous work on education and health.

## **5. Conclusion**

The abusive application of pesticides is an alarming data that has been proved to affect individual, familiar and public health. Environmental exposure to pesticides can affect the human health by many ways and here we demonstrated the association with depressive symptoms, which seem to be related with some neurotoxic process that needs to be elucidated. Intervention actions are encouraged to decrease both environmental and occupational health risk in the rural zone.

## **Acknowledgements**

We thank all subjects from Caparaó Capixaba region that participated of these preliminary findings and all students from the University that voluntarily contributed with the interviews in each community. CLC and AMASC are supported by FAPES – Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo and CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico.

## **References**

- ANVISA. Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico em Alimentos (PARA), dados da coleta e análise de alimentos de 2010. In: Sanitária AnNdVn, editor. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2011.
- Arcury TA, Quandt SA, Barr DB, Hoppin JA, McCauley L, Grzywacz JG, et al. Farmworker exposure to pesticides: methodologic issues for the collection of comparable data. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 923-8.
- Beseler C, Stallones L, Hoppin JA, Alavanja MC, Blair A, Keefe T, et al. Depression and pesticide exposures in female spouses of licensed pesticide applicators in the agricultural health study cohort. *J Occup Environ Med* 2006; 48: 1005-13. <http://dx.doi.org/10.1097/01.jom.0000235938.70212.dd>.
- Beseler CL, Stallones L. A cohort study of pesticide poisoning and depression in Colorado farm residents. *Ann Epidemiol* 2008; 18: 768-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annepidem.2008.05.004>.

- Beseler CL, Stallones L. Structural equation modeling of pesticide poisoning, depression, safety, and injury. *J Agromedicine* 2013; 18: 340-9. <http://dx.doi.org/10.1080/1059924X.2013.826117>.
- Brazil-Health-Ministry. Relatório: Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos no Estado do Espírito Santo - Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde 2015.
- Camon VAA. Depressão como um processo vital. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2001.
- Cetcaf. Breve histórico do café arábica no Espírito Santo. Cafeicultura Capixaba, 2014.
- Coronado GD, Holte S, Vigoren E, Griffith WC, Barr DB, Faustman E, et al. Organophosphate pesticide exposure and residential proximity to nearby fields: evidence for the drift pathway. *J Occup Environ Med* 2011; 53: 884-91. <http://dx.doi.org/10.1097/JOM.0b013e318222f03a>.
- Cruz LN, Fleck MP, Polanczyk CA. Depression as a determinant of quality of life in patients with chronic disease: data from Brazil. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2010; 45: 953-61. <http://dx.doi.org/10.1007/s00127-009-0141-2>.
- Faria NM, Facchini LA, Fassa AG, Tomasi E. [A cross-sectional study about mental health of farm-workers from Serra Gaucha (Brazil)]. *Rev Saude Publica* 1999; 33: 391-400.
- Fuortes LJ, Ayebo AD, Kross BC. Cholinesterase-inhibiting insecticide toxicity. *Am Fam Physician* 1993; 47: 1613-20.
- Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Lotufo Neto F, Andrade LH, Wang YP. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Rev Bras Psiquiatr* 2012; 34: 389-94.
- Hiott AE, Quandt SA, Early J, Jackson DS, Arcury TA. Review of pesticide education materials for health care providers providing care to agricultural workers. *J Rural Health* 2006; 22: 17-25. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-0361.2006.00002.x>.
- Iatchac FO, Tavares AC, Rusch SG, Barbieri N, Argimon II. Atualização de resultados obtidos no projeto de adaptação do Inventário de Depressão Beck (BDI-II) para população brasileira. X Salão de Iniciação Científica - PUCRS, 2010.
- Jackson-Koku G. Beck Depression Inventory. *Occup Med (Lond)* 2016; 66: 174-5. <http://dx.doi.org/10.1093/occmed/kqv087>.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 2005; 62: 593-602. <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.62.6.593>.
- Levandovski R, Dantas G, Fernandes LC, Caumo W, Torres I, Roenneberg T, et al. Depression scores associate with chronotype and social jetlag in a rural

- population. *Chronobiol Int* 2011; 28: 771-8. <http://dx.doi.org/10.3109/07420528.2011.602445>.
- Li Y, Sun Y, Yang J, Wu Y, Yu J, Li B. The long-term effects of the herbicide atrazine on the dopaminergic system following exposure during pubertal development. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2014; 763: 23-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.12.009>.
- London L, Beseler C, Bouchard MF, Bellinger DC, Colosio C, Grandjean P, et al. Neurobehavioral and neurodevelopmental effects of pesticide exposures. *Neurotoxicology* 2012a; 33: 887-96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2012.01.004>.
- London L, Flisher AJ, Wesseling C, Mergler D, Kromhout H. Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? *Am J Ind Med* 2005; 47: 308-21. <http://dx.doi.org/10.1002/ajim.20147>.
- London ML, Bernard JK, Froetschel MA, Bertrand JK, Graves WM. The relationship between weight, age, and average daily gain to show performance of Georgia 4-H and Future Farmers of America (FFA) commercial dairy heifers. *J Dairy Sci* 2012b; 95: 986-96. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4599>.
- Mandour RA. Environmental risks of insecticides cholinesterase inhibitors. *Toxicol Int* 2013; 20: 30-4. <http://dx.doi.org/10.4103/0971-6580.111556>.
- Menendez-Helman RJ, Ferreyroa GV, dos Santos Afonso M, Salibian A. Glyphosate as an acetylcholinesterase inhibitor in *Cnesterodon decemmaculatus*. *Bull Environ Contam Toxicol* 2012; 88: 6-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-011-0423-8>.
- Meyer A, Koifman S, Koifman RJ, Moreira JC, de Rezende Chrisman J, Abreu-Villaca Y. Mood disorders hospitalizations, suicide attempts, and suicide mortality among agricultural workers and residents in an area with intensive use of pesticides in Brazil. *J Toxicol Environ Health A* 2010; 73: 866-77. <http://dx.doi.org/10.1080/15287391003744781>.
- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron* 2002; 34: 13-25.
- Noro Y, Tomizawa M, Ito Y, Suzuki H, Abe K, Kamijima M. Anticholinesterase insecticide action at the murine male reproductive system. *Bioorg Med Chem Lett* 2013; 23: 5434-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.07.021>.
- Parron T, Requena M, Hernandez AF, Alarcon R. Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011; 256: 379-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2011.05.006>.
- Pickett W, King WD, Lees RE, Bienefeld M, Morrison HI, Brison RJ. Suicide mortality and pesticide use among Canadian farmers. *Am J Ind Med* 1998; 34: 364-72.
- Rizzati V, Briand O, Guillou H, Gamet-Payrastre L. Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature. *Chem Biol Interact* 2016; 254: 231-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2016.06.003>.

- Roy NM, Carneiro B, Ochs J. Glyphosate induces neurotoxicity in zebrafish. *Environ Toxicol Pharmacol* 2016; 42: 45-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2016.01.003>.
- Scopinho RA. [Life and health conditions of a worker in a rural setting]. *Cien Saude Colet* 2010; 15 Suppl 1: 1575-84.
- Stallones L, Beseler C. Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. *Ann Epidemiol* 2002; 12: 389-94.
- Stallones L, Beseler CL. Assessing the connection between organophosphate pesticide poisoning and mental health: A comparison of neuropsychological symptoms from clinical observations, animal models and epidemiological studies. *Cortex* 2016; 74: 405-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cortex.2015.10.002>.
- USDA. Coffee: World Markets and Trade. In: United States Department of Agriculture/USDA FAS, editor. Office of Global Analysis, 2016.
- Wesseling C, van Wendel de Joode B, Keifer M, London L, Mergler D, Stallones L. Symptoms of psychological distress and suicidal ideation among banana workers with a history of poisoning by organophosphate or n-methyl carbamate pesticides. *Occup Environ Med* 2010; 67: 778-84. <http://dx.doi.org/10.1136/oem.2009.047266>.
- Williams JB, Spitzer RL, Linzer M, Kroenke K, Hahn SR, deGruy FV, et al. Gender differences in depression in primary care. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 654-9.

## 6. Considerações

Este é o primeiro estudo desse tipo a investigar a INSAN em pequenos cafeicultores, associando mecanismos epigenéticos e sócio ambientais entre seus fatores determinantes. O resultado encontrado demonstra o potencial uso da metilação do éxon I do BDNF para prever a vulnerabilidade comportamental induzida pelas adversidades da vida, como a INSAN.

Trata-se importante ressaltar que em pesquisas em comunidades rurais a forma como se aborda o trabalhador influencia na qualidade dos resultados. Nesta pesquisa, a participação da Caparaó Júnior (Empresa Júnior do curso de Tecnólogo em Cafeicultura) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo foi fundamental. O apoio presencial durante as primeiras visitas *in loco* credenciou nossa equipe a uma abordagem franca, segura e prazerosa.

A Empresa, fundada em maio de 2010 atende a mais de 700 produtores rurais da região do Caparaó e de seu entorno, tendo como parceiros associações de produtores rurais e prefeituras. É uma empresa Junior formada por alunos do Curso Superior de Tecnologia em Cafeicultura com orientação dos professores e servidores técnicos administrativos, e que tem como atividade principal a prestação de serviços de agronomia e consultorias a atividades agrícolas voltadas para a cafeicultura.



## **7. Conclusões**

A INSAN é um grave problema para os trabalhadores rurais. Foi observado uma prevalência de 23,68% de INSAN entre as famílias de produtores rurais do Caparaó Capixaba. O perfil socioeconômico da população estudada foi marcado pelo baixo nível de escolaridade e baixa renda per capita. A ocorrência de metilação do éxon I do BDNF, a posse de pequena fração de terras, o maior número de sintomas e/ou doenças relatadas, e a necessidade de trabalhar fora de sua propriedade devido baixa renda podem explicar a prevalência de Insegurança Alimentar e Nutricional na pesquisa. Desta forma, este trabalho sugere a necessidade de implementação de estratégias para melhorar as condições de segurança alimentar e de vida do pequeno produtor familiar rural.

## 8. Referências

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico em Alimentos (PARA), dados da coleta e análise de alimentos de 2010.

BACHA, E. L. **Os mitos de uma década: ensaios de economia brasileira**. Paz e Terra, 1976. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=E0A-AAAAYAAJ> >.

BANDES. Diagnóstico Socioeconômico Microrregião Caparaó / Instituto Jones dos Santos Neves, Banco de Desenvolvimento do Espírito Santo (BANDES) e Consórcio do Caparaó, 2005. 213p.

BARKER, D. (2012). Developmental origins of chronic disease. *Public Health Nutrition*, 126, 185–189.

BARROS, R. P. D., CARVALHO, M. D., FRANCO, S., MENDONÇA, R., & ROSALÉM, A. Pobreza no Espírito Santo. Texto de Discussão nº 1476, IPEA, mar 2010.

BOCKMÜHL, Y.;PATCHEV, A. V.; MADEJSKA, A.; HOFFMANN, A.; SOUSA, J. C.; SOUSA, N.; HOLSBOER, F.; ALMEIDA, O. F.; SPENGLER, D.,. Methylation at the CpG island shore region upregulates Nr3c1 promoter activity after early-life stress. **Epigenetics**, v. 10, n. 3, p. 247-57, 2015. ISSN 1559-2308. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25793778> >.

BORGES, V. J.A.; OLIVEIRA, L.R.; . Balanço Social 2014 Incaper / Organizadores, - 2 ed. - Vitória, ES : Incaper, 2015. 72 p. : il. - (Incaper. Documentos, 236). ISSN 1519-2059: <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/1033/1/BRT-balancosocial2014-incaper.pdf>

BRASIL. 2006. Lei nº. 11.346, de 15 de setembro de 2006. Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional-SISAN, in Diário Oficial da União. 2006: Brasília, D.F p. 1-5.  
[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2006/lei/11346.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/11346.htm)

BRUNONI, A. R.; LOPES, M.; FREGNI, F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 11, n. 8, p. 1169-80, Dec 2008. ISSN 1461-1457. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18752720> >.

CHAMPAGNE FA. Epigenetic influence of social experiences across the lifespan. *Developmental psychobiology*. May; 2010 52(4):299–311. [PubMed: 20175106]

COHEN S, JANICKI-DEVERTS D, MILLER GE *Psychological stress and disease*. *JAMA* 298:1685–1687, (2007)

COLE S.W. Social regulation of leukocyte homeostasis: The role of glucocorticoid sensitivity. *Brain Behav Immun* 22:1049–1055, (2008)

COMBS-ORME, T. (2013). Epigenetics and the social work imperative. *Social Work*, 58, 23–30.

DAS, P. M.; SINGAL, R. DNA methylation and cancer. *J Clin Oncol*, v.22, n.22, p.4632-42, Nov 15. 2004.

DAUNCEY, M. Recent advances in nutrition, genes and brain health. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 71, n. 04, p. 581-591, 2012. ISSN 1475-2719.

DAVISON, K. M.; MARSHALL-FABIEN, G. L.; TECSON, A. Association of moderate and severe food insecurity with suicidal ideation in adults: national survey data from three Canadian provinces. **Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol**, v. 50, n. 6, p. 963-72, Jun 2015. ISSN 1433-9285. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25652592> >.

DE ALBERTS, BRUCE, JOHNSON A, LEWIS J, et ai. *Biologia Molecular da Célula*, 5a ed New York: Garland Science, 2008;

DESAI, M; JELLYMAN, J. K.; ROSS, M. G. Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. *International Journal of Obesity* (2015) **39**, 633–641; doi:10.1038/ijo.2015.13;

EHLERT, U., 2013. Enduring psychobiological effects of childhood adversity. *Psychoneuroendocrinology* 38, 1850–1857.

ESTELLER, M. DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. **Curr Opin Oncol**, v. 17, n. 1, p. 55-60, Jan 2005. ISSN 1040-8746. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15608514> >.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). *Superação da fome e da pobreza rural iniciativas brasileiras*. Brasília: FAO; 2016

FEINBERG, A. P.; OHLSSON, R.; HENIKOFF, S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet*, v.7, n.1, p.21-33, Jan. 2006.

FENECH, M.; BAGHURST, P.; LUDERER, W.; TURNER, J.; RECORD, S.; CEPPI, M.; BONASSI, S. Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol,  $\beta$ -carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability – results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis*, v.26, p.991-999, 2005.

FIDA- Fundo Internacional de Desenvolvimento Agrícola/ Organização das Nações Unidas, 2016 .Disponível em :< <http://www.ruralpovertyportal.org/es/country/home/tags/brazil> >. Acesso em: 10 de maio 2016.).

GROSSNIKLAUS, U.; KELLY, W.G.; FERGUSON-SMITH, A.C.; PEMBREY, M., LINDQUIST, S. Transgenerational epigenetic inheritance: how important is it? **Nature Reviews Genetics**, v. 14, n. 3, p. 228-235, 2013.

HORTON, R. Maternal and child undernutrition: an urgent opportunity, *Lancet* 371 (2008) 179.

IARC. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. *Monographs Volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides*.2015. Disponível em: <https://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf> acessado em 30/08/2016.

HOU, L.; ZHANG, X.; WANG, D.; BACCARELLI, A. Environmental chemical exposures and human epigenetics. *Int J Epidemiol*, v. 41, n. 1, p. 79-105, Feb 2012. ISSN 1464-3685. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22253299> >.

IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente. GEO Brasil 2002. Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil /Organizado por Thereza Christina Carvalho Santos e João Batista Drummond Câmara. - Brasília: Edições IBAMA,2002.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2007 Censo Demográfico, 2007. Contagem da população 2007. (Disponível em <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/de\\_fault.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/de_fault.shtm) >. acessado em 21 de fev. 2015

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. CENSO 2010. **Fornecido em meio eletrônico:[[www. ibge. gov. br/home/estatistica/populacao/censo2010/](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/)]** Acessado em, v. 20, n. 03, p. 2012, 2010.

IJSN- Instituto Jones dos Santos Neves- Coordenação de Estudos Sociais, 2015. Segurança Alimentar Espírito Santo, a partir da Pnad 2013. Ano 01, Nº01 maio de 2015. Disponível em:< <http://www.ijsn.es.gov.br/artigos/4303-seguranca-alimentar-no-espírito-santo>> acesso em 05 de jun 2016.

INCAPER – Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2015. Síntese da Produção Agropecuária do Espírito Santo 2013/2014. Disponível em: < <http://incaper.es.gov.br/socioeconomia>> acesso em 20 de jun 2016

INCRA. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária. Índices Básicos por municípios. Sistema Nacional de Cadastro Rural, 2013. Disponível em: <[http://www.incra.gov.br/sites/default/files/uploads/estruturafundiar/regularizacao-fundiar/indices-cadastrais/indices\\_basicos\\_2013\\_por\\_municipio.pdf](http://www.incra.gov.br/sites/default/files/uploads/estruturafundiar/regularizacao-fundiar/indices-cadastrais/indices_basicos_2013_por_municipio.pdf)> Acesso em 25 de ago.2016

IPEA. Instituto de Pesquisas Econômicas Aplicadas. Brasil em desenvolvimento 2013 : estado, planejamento e políticas públicas / Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada ; editores: Rogério Boueri, Marco Aurélio Costa. - Brasília : Ipea, 2013. 3 v. : gráfs., mapas. – (Brasil: o Estado de uma Nação)

JANG H, SERRA C. Nutrition, Epigenetics, and Diseases. *Clinical Nutrition Research*. 2014;3(1):1-8. doi:10.7762/cnr.2014.3.1.1.

KEPPLE AW, SEGALL-CORRÊA AM. Conceituando e medindo segurança alimentar e nutricional. *Cien Saude Colet* 2011; 16(1):187-199.

KIM, D. H. The interactive effect of methyl-group diet and polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase on the risk of colorectal cancer. *Mutat Res*, v. 622, n. 1-2, p. 14-8, Sep 2007. ISSN 0027-5107. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17602711> >.

KOIFMAN MAS, KOIFMAN RJ, MOREIRA JC, DE REZENDE CHRISMAN J, ABREU-VILLACA Y. Mood disorders hospitalizations, suicide attempts, and suicide mortality among agricultural workers and residents in an area with intensive use of pesticides in Brazil. *J Toxicol Environ Health Part A* 2010;73(13–14):866–77.

KUZAWA, C., & QUINN, E. (2009). Developmental origins of adult function and health: Evolutionary hypotheses. *Annual Review of Anthropology*, 38, 131–147.

LEE RS, TAMASHIRO KL, YANG X, PURCELL RH, HUO Y, RONGIONE M, ET AL. A measure of glucocorticoid load provided by DNA methylation of Fkbp5 in mice. *Psychopharmacology (Berl)* (2011) 218:303–12. doi:10.1007/s00213-011-2307-3

LEUNG, C. W. et al. Household food insecurity is positively associated with depression among low-income supplemental nutrition assistance program participants and income-eligible nonparticipants. *J Nutr*, v. 145, n. 3, p. 622-7, Mar 2015. ISSN 1541-6100. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25733480> >.

LOPEZ, J.; PERCHARDE, M.; COLEY, H.M.; WEBB, A.; CROOK, T. The context and potential of epigenetics in oncology. *Br J Cancer*, v. 100, p. 571-577, 2009.

MCEWEN BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med*-2008: 338:171–179.

MALUF, R.; MENEZES, F.; MARQUES, S. B. Caderno “Segurança Alimentar”. **Paris: FHP, 2000.**

MALUF RSJ. Definindo segurança alimentar e nutricional. In: Maluf RSJ, organizador. *Segurança alimentar e nutricional*. Petrópolis: Vozes; 2007. p. 17-19.

MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nat Neurosci*, v. 10, n. 9, p. 1089-93, Sep 2007. ISSN 1097-6256. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17726474> >.

McEWEN, B. S. (2012). Brain on stress: How the social environment gets under the skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(Suppl 2), 17180–17185.

MEHTA D, BINDER EB. Gene x environment vulnerability factors for PTSD: the HPA-axis. *Neuropharmacology* (2012) 62:654–62. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.03.009

MELCHIOR, M. et al. Mental health context of food insecurity: a representative cohort of families with young children. *Pediatrics*, v. 124, n. 4, p. e564-72, Oct 2009. ISSN 1098-4275. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786424> >.

MESSER, L. (2015). Developmental programming: Priming disease susceptibility for subsequent generations. *Current Epidemiology Reports*, 2(1), 37–51.

MILLER GE, CHEN E, FOK AK, et al. Low early-life social class leaves a biological residue manifested by decreased glucocorticoid and increased proinflammatory signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Aug 25; 2009 106(34):14716–14721. [PubMed: 19617551]

MORAES, D.C; DUTRA, L.C.; FRANCESSCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E. Food insecurity and anthropometric, dietary and social indicators in Brazilian studies: a systematic review, *Ciência & Saúde Coletiva*, 19(5):1475-1488, 2014. DOI: 10.1590/1413-81232014195.13012013

MULERO-NAVARRO, S.; ESTELLER, M. Chromatin remodeling factor CHD5 is silenced by promoter CpG island hypermethylation in human cancer. *Epigenetics*, v.3, n.4, p.210-5, Jul-Aug. 2008.

NOTTERMAN, D. A.; MITCHELL, C. Epigenetics and Understanding the Impact of

Social Determinants of Health. **Pediatr Clin North Am**, v. 62, n. 5, p. 1227-40, Oct 2015. ISSN 1557-8240. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26318949> >.

PÉREZ-ESCAMILLA R. Seguridad Alimentaria Y Nutricional: Marco Conceptual. In: XII Congresso Brasileiro de Sociologia, 2005, Belo Horizonte. *Sociologia e realidade: pesquisa social no século XXI*, 2005.

PINHEIRO, A.O.; A alimentação saudável e a promoção à saúde no context da segurança alimentar e nutricional. *Saúde em Debate*. 2005; 29 (70): 125-139  
PNUD. Índice de Desenvolvimento Humano Municipal Brasileiro. – Brasília: PNUD, Ipea, FJP, 2013. 96 p. – (Atlas do Desenvolvimento Humano no Brasil 2013). Incl. bibl. ISBN: 978-85-7811-171-7 1. Disponível em:  
<<http://www.atlasbrasil.org.br/2013/pt/consulta/>> acesso em 29 ago 2016.

PRYOR, L.; LIORET, S.; VAN DER WAERDEN, J.; FOMBONNE, É.; FALISSARD, B.; MELCHIOR, M.. Food insecurity and mental health problems among a community sample of young adults. **Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol**, v. 51, n. 8, p. 1073-81, Aug 2016. ISSN 1433-9285. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27294729> >.

RAZIN A. CpG methylation, chromatin structure and gene silencing-a three-way connection. *The EMBO journal*. Sep 1; 1998 17(17):4905–4908. [PubMed: 9724627]

RODRÍGUEZ DORANTES, M.; ASCENCIO, N.T.; CERBÓN, M.A.; LÓPEZ, M.; CERVANTES, A. Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. **Revista de investigación clínica**, v. 56, p. 56-71, 2004. ISSN 0034-8376. Disponível em: < [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-83762004000100010&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762004000100010&nrm=iso) >.

SCELZA, B. A. Food scarcity, not economic constraint limits consumption in a rural Aboriginal community. **Australian Journal of Rural Health**, v. 20, n. 3, p. 108-112, 2012. ISSN 1440-1584.

SCHNEIDER, S. A presença e as potencialidades da Agricultura Familiar na América Latina e no Caribe. **Redes**, v. 21, n. 3, p. 11-33, 2016. ISSN 1982-6745.

SAENGER,P.; CZERNICHOW, P.; HUGHES, I.; REITER, E.O. Small for gestational age: short stature and beyond, *Endocr. Rev.* 28 (2007) 219e251.

SEGALL-CORREA, A. M. et. al. Relatório técnico: acompanhamento e avaliação da segurança alimentar de famílias brasileiras: validação de metodologia e de instrumento de coleta de informação. Campinas: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Faculdade de Ciências Médicas, 2003. Investigação com financiamento e apoio técnico do Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

SEN, S.; DUMAN, R.; SANACORA, G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. **Biol. Psychiatry**, v. 64, p. 527–532, 2008.

SHELDON COHEN; DENISE JANICKI-DEVERTS; WILLIAM J. DOYLE; GREGORY E. MILLER; ELLEN FRANK; BRUCE S. RABIN; AND RONALD B. TURNER Chronic stress, glucocorticoid receptor resistance, inflammation, and disease risk. *Social*

Sciences - Psychological and Cognitive Sciences - Biological Sciences - Psychological and Cognitive Sciences: *PNAS* 2012 109 (16) 5995-5999; published ahead of print April 2, 2012, doi:10.1073/pnas.1118355109

SHONKOFF, J. P., BOYCE, W. T., & MCEWEN, B. S. (2009). Neuroscience, molecular biology, and the childhood roots of health disparities: Building a new framework for health promotion and disease prevention. *JAMA*, 301, 2252–2259.

SÍCOLI JL. Pactuando conceitos fundamentais para a construção de um sistema de monitoramento da SAN. [documento na Internet]. Acesso em 30 mar 2015. Disponível em: <http://www.polis.org.br/download/65.pdf>

SINDAG, 2010. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. Disponível em: <<http://www.sindag.com.br/informativo/15/>> Acesso em 17 jul 2014.

SZY, M. Early life, the epigenome and human health. *Acta Paediatr.* Jul; 2009 98(7):1082–1084. [PubMed: 19638011]

TAYIE, F. A., & ZIZZA, C. A.. Food insecurity and dyslipidemia among adults in the United States. *Preventive Medicine*, 48(5), 480–485. 2009

VALENTE, F. L. S. Direito humano à alimentação: desafios e conquistas. In: (Ed.). **Direito humano à alimentação: desafios e conquistas**: Cortez, 2002.

VAN DEN BERGH, B. R., MULDER, E. J., MENNES, M., & GLOVER, V. (2005). Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: Links and possible mechanisms. A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 237–258.

WALLACK, L.; THORNBURG, K. Developmental Origins, Epigenetics, and Equity: Moving Upstream. **Matern Child Health J**, v. 20, n. 5, p. 935-40, May 2016. ISSN 1573-6628. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27029539> >.

WANG, Z.; ZHANG, X.J.; LI, T.; LI, J.; TANG, Y.; LE, W. Valproic acid reduces neuritic plaque formation and improves learning deficits in APPSwe /PS1A246E transgenic mice via preventing the prenatal hypoxia-induced down-regulation of neprilysin. **CNS Neurosci Ther**, v. 20, p. 209-217, 2014.

WEAVER, I.C.; D'ALESSIO, A.C.; BROWN, S.E.; HELLSTROM, I.C.; DYMOV, S.; SHARMA, S.; ... MEANEY, M.J. The transcription factor nerve growth factor-inducible protein 1 mediates epigenetic programming: altering epigenetic marks by immediate-early genes. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 7, p. 1756-1768, 2007.

WEBER, M. ET AL. (2007). Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat Genet.* 39(4): 457-66.

WHO. World Health Organization quality of life assessment - THE WHOQOL GROUP - (WHOQOL): position paper from the World Health Organization. *Soc Sci Med*, 41(10):1403-1409, 1995.

WONG, J.; HYDE, T.M.; CASSANO, H.L.; DEEP-SOBOSLAY, A.; KLEINMAN, J.E.; WEICKERT, C.S. Promoter specific alterations of brain-derived neurotrophic factor mRNA in schizophrenia. **Neuroscience**, v. 169, p. 1071-1084, 2010.

YOO, C. B. & JONES, P. A. (2006). Epigenetic therapy of cancer: past, present and future *Nat Rev Drug Discov.* 5(1): 37-50.



## 9. Anexos

### 9.1 Comprovantes de submissão dos artigos

#### i. Artigo 01 – 1º autor

**Confirmation of your submission to BMC Public Health - PUBH-D-17-00218**  
1 mensagem

**BMC Public Health Editorial Office** <em@editorialmanager.com>  
Responder a: BMC Public Health Editorial Office <bmcpublichealth@biomedcentral.com>  
Para: wagner Miranda barbosa <wagmiranda@gmail.com>

20 de janeiro de 2017 13:05

PUBH-D-17-00218  
Food and Nutritional Insecurity: epigenetic correlation of the BDNF gene, social and health status in familiar coffee farmers  
Wagner Miranda Barbosa, M.D., PhD student; Carlos César Jorden Almança, M.D., PhD student; Flávia Vitorino Freitas, M.D., PhD student; Catarine Conti, PhD; Aline Ribeiro Borçoi, M.D., PhD student; Juliana Dalbó, PhD student; Erika Aparecida Silva Freitas, PhD student; João Batista Pavesi-Simão, PhD; Luciane Daniele Cardoso, PhD; José Aires Ventura, PhD; Suzanny Oliveira Mendes, M.D., PhD student; Adriana Madeira Alvares Silva, PhD  
BMC Public Health

Dear Sr barbosa,

Thank you for submitting your manuscript 'Food and Nutritional Insecurity: epigenetic correlation of the BDNF gene, social and health status in familiar coffee farmers' to BMC Public Health.

The submission id is: PUBH-D-17-00218  
Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following website:  
<http://pubh.edmgr.com/>

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

Best wishes,

Editorial Office  
BMC Public Health  
<http://www.biomedcentral.com/bmcpublichealth>

**Confirmation of your submission to BMC Public Health - PUBH-D-17-00218**  
1 mensagem

**BMC Public Health Editorial Office** <em@editorialmanager.com>  
Responder a: BMC Public Health Editorial Office <bmcpublichealth@biomedcentral.com>  
Para: wagner Miranda barbosa <wagmiranda@gmail.com>

20 de janeiro de 2017  
13:05

PUBH-D-17-00218  
Food and Nutritional Insecurity: epigenetic correlation of the BDNF gene, social and health status in familiar coffee farmers  
Wagner Miranda Barbosa, M.D., PhD student; Carlos César Jorden Almança, M.D., PhD student; Flávia Vitorino Freitas, M.D., PhD student; Catarine Conti, PhD; Aline Ribeiro Borçoi, M.D., PhD student; Juliana Dalbó, PhD student; Erika Aparecida Silva Freitas, PhD student; João Batista Pavesi-Simão, PhD; Luciane Daniele Cardoso, PhD; José Aires Ventura, PhD; Suzanny Oliveira Mendes, M.D., PhD student; Adriana Madeira Alvares Silva, PhD  
BMC Public Health

Dear Sr barbosa,

Thank you for submitting your manuscript 'Food and Nutritional Insecurity: epigenetic correlation of the BDNF gene, social and health status in familiar coffee farmers' to BMC Public Health.

The submission id is: PUBH-D-17-00218  
Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following website:  
<http://pubh.edmgr.com/>

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

Best wishes,  
Editorial Office/ BMC Public Health  
<http://www.biomedcentral.com/bmcpublichealth>

## ii. Artigo 02 – 2º autor

Your recent submission to STOTEN	
Science of the Total Environment <j.scitotenv@elsevier.com> Para: wagnerbarbosa@gmail.com	8 de agosto de 2016 19:03
Dear Dr. Wagner Barbosa,	
You have been listed as a Co-Author of the following submission:	
Journal: Science of the Total Environment Corresponding Author: Catarine Conti Co-Authors: Wagner M Barbosa; João B Pavesi-Simão; Adriana M Silva-Conforti Title: Increased Beck Depression Inventory score among coffee growers pesticide applicators in Brazil.	
If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at <a href="mailto:catarineconti@hotmail.com">catarineconti@hotmail.com</a> ; do not follow the link below.	
An Open Researcher and Contributor ID (ORCID) is a unique digital identifier to which you can link your published articles and other professional activities, providing a single record of all your research.	
We would like to invite you to link your ORCID ID to this submission. If the submission is accepted, your ORCID ID will be linked to the final published article and transferred to CrossRef. Your ORCID account will also be updated.	
To do this, visit our dedicated page in EES. There you can link to an existing ORCID ID or register for one and link the submission to it:	
<a href="http://ees.elsevier.com/stoten/l.asp?i=592995&amp;l=ANCPINYY">http://ees.elsevier.com/stoten/l.asp?i=592995&amp;l=ANCPINYY</a>	
More information on ORCID can be found on the ORCID website, <a href="http://www.ORCID.org">http://www.ORCID.org</a> , or on our help page: <a href="http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923">http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923</a>	
Like other Publishers, Elsevier supports ORCID - an open, non-profit, community based effort - and has adapted its submission system to enable authors and co-authors to connect their submissions to their unique ORCID IDs.	
Thank you,	
Science of the Total Environment	

Science of the Total Environment [j.scitotenv@elsevier.com](mailto:j.scitotenv@elsevier.com) 8 de agosto de 2016 19:03

Para: [wagnerbarbosa@gmail.com](mailto:wagnerbarbosa@gmail.com)

Dear Dr. Wagner Barbosa,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Science of the Total Environment

Corresponding Author: Catarine Conti

Co-Authors: Wagner M Barbosa; João B Pavesi-Simão; Adriana M Silva-Conforti

Title: Increased Beck Depression Inventory score among coffee growers pesticide applicators in Brazil.

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at [catarineconti@hotmail.com](mailto:catarineconti@hotmail.com); do not follow the link below.

An Open Researcher and Contributor ID (ORCID) is a unique digital identifier to which you can link your published articles and other professional activities, providing a single record of all your research.

We would like to invite you to link your ORCID ID to this submission. If the submission is accepted, your ORCID ID will be linked to the final published article and transferred to CrossRef. Your ORCID account will also be updated. To do this, visit our dedicated page in EES. There you can link to an existing ORCID ID or register for one and link the submission to it:

<http://ees.elsevier.com/stoten/l.asp?i=592995&l=ANCPINYY>

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our help page: [http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/2210/p/7923](http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923)

Like other Publishers, Elsevier supports ORCID - an open, non-profit, community based effort - and has adapted its submission system to enable authors and co-authors to connect their submissions to their unique ORCID IDs.

Thank you, Science of the Total Environment /

## 9.2 Protocolo de Extração de DNA humano por SAL

### Protocolo de Extração de DNA de Leucócitos de Sangue Periférico

Obs.: Outros volumes de sangue podem ser usados, devendo-se proceder alterações proporcionais nos volumes dos demais reagentes.

1. Iniciar a extração com 500µL de sangue total, coletado com tubo com EDTA.
2. Antes de iniciar a extração inverter o tubo (contendo o sangue) várias vezes para obter uma solução homogênea. Caso o sangue tenha sido conservado em geladeira deixar ± 10 minutos a temperatura ambiente antes de iniciar a extração.
3. Aos 500µL de sangue, adicionar 1,5mL de tampão de lise de células sanguíneas (1X) em um tubo tipo *ependorf*.
4. Deixar o tubo em gelo por pelo menos 30 minutos para obter lise das células vermelhas.
5. Centrifugar por 15 minutos a 1800rpm a 4°C.
6. Descartar o sobrenadante.
7. Rinsar o tubo e pellet com tampão de lise de células sanguíneas (1X). Vórtex por 10 segundos. Acrescentar 750µL de tampão de lise de células sanguíneas (1X) e centrifugar por 5 minutos a 1800rpm a 4°C. Descartar o sobrenadante. (Se o pellet ainda estiver sujo, lavar novamente com 500µL de tampão de lise de células sanguíneas (1X) e centrifugar por 5 minutos a 1800rpm a 4°C e descartar o sobrenadante).
8. Ressuspender o pellet em 300µL de tampão de lise nuclear (1X). Vórtex ou agitar os tubos manualmente, de forma vigorosa, por 30 segundos.
9. Adicionar 1µL de proteinase K (20 mg/mL) e misturar cuidadosamente com a solução anterior.
10. Adicionar 30µL de SDS 10% e misturar cuidadosamente as soluções. Misturar cuidadosamente o tubo até formar uma solução viscosa.
11. Incubar overnight a 37°C. A solução deve ficar clara e viscosa.
12. Adicionar 100µL de NaCl (5M).
13. Misturar vigorosamente por 30 segundos usando um vórtex.
14. Centrifugar por 20 minutos a 2500rpm.
15. Transferir o sobrenadante para outro tubo e centrifugar novamente por 20 minutos a 2500rpm.
16. Transferir o sobrenadante para um novo tubo. Precipitar o DNA adicionando-se 2 volumes de etanol absoluto (temperatura ambiente). O DNA aparece como uma “nuvem”.
17. Centrifugar por 10 minutos a 2500rpm. (Altere para 10000rpm, o *pellet* não estava precipitando com a rotação anterior).
18. Descartar o sobrenadante e acrescentar 1 mL de etanol 70% (temperatura ambiente), para a retirada de sal.
19. Centrifugar por 5 minutos a 10000rpm. Desprezar o sobrenadante e secar em temperatura ambiente.
20. Dissolver o DNA em 40 a 100µL de TE, em tubo *ependorf* de 2ml.
21. Incubar a 65°C por 30 minutos, para auxiliar na sua ressuspensão. Guardar as amostras a 4°C (câmara fria).

#### Verificação da qualidade do DNA

- Leitura a 260nm e a 280nm no espectrofotômetro
- A relação entre as leituras em 260nm e 280nm (260/280) com resultado entre 1.7 e 1.9, indica pequena contaminação com proteínas.

#### Referência

LAITINEN, J.; SAMARUT, J.; HOLTITA, E. A nontoxic and versatile protein salting-out method for isolation of DNA. **BioTechniques**, v.17, p.316-322, 1994.

#### Soluções para extração de DNA

##### Tampão de Lise de Células Sanguíneas (10X)

1550mM Cloreto de Amônio (NH<sub>4</sub>Cl)

100mM Carbonato ácido de Potássio (KHCO<sub>3</sub>)  
10mM EDTA  
q.s.p. 500mL de Água de Osmose Reversa Autoclavada  
Tampão de Lise Nuclear (10X)  
100mM Tris-HCl (pH: 8,0)  
4M NaCl  
20mMEDTA  
q.s.p. 50mL de Água de Osmose Reversa e Autoclavar  
TE (Tampão Tris - EDTA)  
10mM Tris  
1mM EDTA  
q.s.p. 50mL de Água de Osmose Reversa e Autoclavar

### **9.3 Temperatura de padronização da MS-PCR para o éxon I do BDNF**

Após a conversão do DNA por bissulfito de sódio, as amostras e padrões (metilados e não metilados) foram expostos com os *primers* (metilado e não metilado) ao gradiente de temperatura que variou de 55 a 61°C. Após a ciclagem no termociclador, e a corrida no gel de agarose a 1,5%, a melhor temperatura de anelamento para os dois *primers* foi de 57,5°C.

## 9.4 Questionário utilizado para a pesquisa

### QUESTIONÁRIO

Nº do Quest.: |\_\_||\_\_||\_\_||\_\_|

Data:

Hora do início da entrevista:

Nome do entrevistador

#### MÓDUL 1 (m1):

#### INFORMAÇÕES GERAIS

1	Nome		
2	Endereço		
3	GPS	X:	Y:
4	Telefone:	CEL	
5	Data nascimento/Idade		
6	Sexo:	0  __  M	1  __  F
7	Qual é a sua cor? (cor auto-referida)	0  __  Branca 1  __  Preta 2  __  Amarela	3  __  Indígena 4  __  Parda
8	Grau de escolaridade:	0  __  Analfabeto 1  __  Fundamental Incompleto 2  __  Fundamental completo	3  __  Ensino Médio 4  __  Ensino Superior 5  __  Pós Graduação
9	Estado civil	0  __  Solteiro 1  __  Casado	2  __  Separado/Divorciado 3  __  outro (qual): _____
10	Possui filhos:	0  __  NÃO 1  __  SIM	Quantos? _____ Quantos moram com você? _____
11	Número de moradores no domicílio: _____	Nº moradores de 18 anos ou mais: _____ Nº moradores menores 18 anos: _____	

12	Possui coleta de lixo?	0  __  SIM 1  __  NÃO	2  __  Não Sabe 3  __  Não Respondeu
13	Para onde vão os rejeitos jogados no vaso sanitário? 3  __  Rio/córrego	0  __  Rede de saneamento 1  __  Fossa séptica ecológica 2  __  Fossa séptica	4  __  Não Sabe 5  __  Não Respondeu 6  __  outro: _____
14	Trabalha exclusivamente na propriedade?	0  __  SIM (pule para a Q17)	1  __  NÃO
15	Caso negativo, onde mais trabalha? _____		
16	Possui carteira assinada?	0  __  SIM 1  __  NÃO	2  __  Não Sabe 3  __  Não Respondeu
17	A família possui outro tipo de renda salarial?:	0  __  SIM 1  __  NÃO	2  __  Não Sabe 3  __  Não Respondeu
18	Recebe auxílio de Programas do Governo ou tem acesso a algum tipo de financiamento?	0  __  SIM - Qual? _____ 1  __  NÃO 2  __  Não Sabe 3  __  Não Respondeu	
19	Renda familiar (mês anterior) (toda família): ou em salários mínimos	R\$ _____ 1  __  Sem rendimento 2  __  Até 1 salário mínimo	3  __  Entre 1 e 2 salários mínimos 4  __  Mais de 2 SM
20	Da renda familiar, quanto em média, é gasto com alimentação?	1  __  Até 30% da renda 2  __  De 30% a 50% 3  __  Acima de 50%	4  __  Não Sabe 5  __  Não Respondeu
21	Da renda familiar, quanto em média, é gasto com saúde?	1  __  Até 30% da renda 2  __  De 30% a 50% 3  __  Acima de 50%	4  __  Não Sabe 5  __  Não Respondeu
22	Possui atividade lazer/recreação? Se sim, qual frequência?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Qual a frequência?	

**MÓDULO 2 - CARACTERÍSTICAS DA TERRA/LOTE**

1	Qual sua relação (condição legal) em relação a propriedade/ lote?	0  __  Proprietário 1  __  Possheiro 2  __  Tem concessão legal do uso da terra 3  __  Parceiro/meeiro	4  __  Arrendatário 5  __  Usa a terra cedida por outros 6  __  Colono 7  __  Outros. Qual? _____
2	Quantas pessoas trabalham na terra? E quem são?	0  __  O próprio 1  __  Familiares 2  __  Outros parentes	3  __  Funcionários 4  __  Outros: _____
3	Qual é o tamanho terra?	_____	
4	Qual a área (percentual) de terra utilizada atualmente para o plantio?	_____	
5	Há quanto tempo é agricultor?	_____	
6	Qual a origem da água que usa para consumo/lavoura?	0  __  Mina / Nascente 1  __  Poço artesiano 2  __  Poço aberto / Natural	3  __  Açude 4  __  Rio / lagora / represa 5  __  Outros: _____
7	O que faz com os resíduos animais e de plantas da lavoura?	0  __  Faz compostagem, humos 1  __  Devolve para a terra 2  __  Joga no lixo normal	3  __  Queima 4  __  Não Sabe 5  __  Não Respondeu 6  __  Outros: _____
8	O(a) senhor(a) está ligado a alguma cooperativa ou associação ou sindicato?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Qual? _____	
9	Possui horta em casa?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Caso afirmativo, qual a finalidade?	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
10	Usa parte da terra para pasto?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Caso afirmativo, qual a área (percentagem) da terra?	_____
11	Quais dos itens abaixo você planta ou já plantou na lavoura? Especificar quando e a finalidade.		
	<b>Tipo de cultura:</b>	<b>Época do plantio:</b>	<b>Finalidade:</b>
	a)  __  Café	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	b)  __  Mandioca	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	c)  __  Feijão	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	d)  __  Pimentão	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	e)  __  Cana	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	f)  __  Milho	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	g)  __  Algodão	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	h)  __  Tomate	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	i)  __  Eucalipto	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos

j)  __  Laranja	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
k)  __  Batata	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
l)  __  Arroz	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
m)  __  Inhame	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
n)  __  Banana	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
o)  __  Morango	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
p)  __  Couve	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
r)  __  Outros: _____	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
	0  __  Planta atualmente 1  __  Já plantou - Ano: _____	0  __  Venda 1  __  Consumo 2  __  Ambos
11 Já usou ou usa algum agrotóxicos (veneno) na lavoura?	0  __  NÃO 1  __  SIM	
12 No caso de uso de agrotóxico (veneno), citar quais.		
<b>Nome do agrotóxico (veneno):</b>	<b>Tempo de uso:</b>	
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais
	0  __  Mais de 5 anos	1  __  Menos de 5 anos 2  __  Já usou e não usa mais



MÓDULO 3. CONDIÇÕES DE SAÚDE E TRABALHO DA FAMÍLIA

1	Faz uso de tabaco (cigarro, charuto, etc.)?	0  __  Nunca fumou (pule para Q3) 1  __  Já fumou e não fuma atualmente 2  __  Fuma atualmente
2	Caso faça uso de tabaco, quantos cigarros por dia?	Quantos : _____
3	Exceto você, alguém da família é tabagista?	0  __  NÃO                      1  __  SIM      Quem? _____
4	Você consome bebidas alcoólicas?	0  __  Nunca bebeu                      (pule para Q7) 1  __  Já bebeu no passado e atualmente não bebe 2  __  Bebe atualmente
5	Com que frequência você ingere bebidas alcoólicas?	0  __  Até 1 vez por mês                      3  __  De 2 a 3 vezes por semana 1  __  Até 1 vez por quinzena                      4  __  Diariamente 2  __  Até 1 vez por semana                      5  __  Não sabe
6	Qual o tipo de bebida alcoólica que você consome com maior frequência?	0  __  Cerveja                      3  __  Destilados em geral 1  __  Cachaça                      4  __  Outras: _____ 2  __  Vinho
7	Exceto você, alguém da família que mora na mesma casa consome bebida alcoólica?	0  __  NÃO (pule para Q9) 1  __  SIM                      Quem? _____
8	Com que frequência bebidas seu(s) familiar(es) ingere(m) bebidas alcoólicas?	0  __  Até 1 vez por mês                      3  __  De 2 a 3 vezes por semana 1  __  Até 1 vez por quinzena                      4  __  Diariamente 2  __  Até 1 vez por semana                      5  __  Não sabe
9	Você faz ou já fez uso de algum tipo de droga ilícita?	0  __  Nunca usou droga ilícita (pule para Q11) 1  __  Já usou, mas não usa atualmente 2  __  Usa droga atualmente                      Qual(is)? _____
10	Com que frequência você faz uso dessa(s) droga(s)?	0  __  Até 1 vez por mês                      3  __  De 2 a 3 vezes por semana                      6  __  Só quando preciso virar a noite 1  __  Até 1 vez por quinzena                      4  __  Diariamente 2  __  Até 1 vez por semana                      5  __  Somente em festas
11	Exceto você, alguém da família faz uso de algum tipo de droga ilícita?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Qual(is)? _____
12	Com que frequência seu(s) familiar(s) faz uso de droga ilícita?	0  __  Até 1 vez por mês                      3  __  De 2 a 3 vezes por semana 1  __  Até 1 vez por quinzena                      4  __  Diariamente 2  __  Até 1 vez por semana                      5  __  Não sabe
13	Você faz uso de algum medicamento contínuo?	0  __  NÃO 1  __  SIM
14	Qual(is) medicamento(s) de uso contínuo você faz uso? Tipo de medicamento:	0  __  Medicamento para dormir                      3  __  Remédio para coração 1  __  Remédio para depressão                      4  __  Remédio para diabetes 2  __  Remédio para pressão arterial

15	<p>Voê apresenta ou já apresentou algum desses sintomas ou doenças?</p> <p>0   <input type="checkbox"/> Irritação ocular  1   <input type="checkbox"/> Leões na pele/Alergia  2   <input type="checkbox"/> Queimaduras na pele  3   <input type="checkbox"/> Náuseas/ânsia de vômito  4   <input type="checkbox"/> Catarro  5   <input type="checkbox"/> Dor abdominal  6   <input type="checkbox"/> Diarreia  7   <input type="checkbox"/> Digestão difícil  8   <input type="checkbox"/> Chiado/sibilos  9   <input type="checkbox"/> Asma  10   <input type="checkbox"/> Inflamações gástricas  11   <input type="checkbox"/> Doenças hepáticas  12   <input type="checkbox"/> Alterações na pressão arterial  13   <input type="checkbox"/> Infertilidade</p> <p>14   <input type="checkbox"/> Lacrimejamento  15   <input type="checkbox"/> Tonturas/Vertigens  16   <input type="checkbox"/> Tosse  17   <input type="checkbox"/> Falta de ar/dispneia  18   <input type="checkbox"/> Visão turva  19   <input type="checkbox"/> Tremores  20   <input type="checkbox"/> Vômitos  21   <input type="checkbox"/> Dor articulações  22   <input type="checkbox"/> Hepatite  23   <input type="checkbox"/> Artrose/osteoporose  24   <input type="checkbox"/> Doenças renais  25   <input type="checkbox"/> Doença respiratória  26   <input type="checkbox"/> Déficit de atenção  27   <input type="checkbox"/> Abortamentos</p> <p>28   <input type="checkbox"/> Dor de cabeça  29   <input type="checkbox"/> Suor excessivo  30   <input type="checkbox"/> Salivação  31   <input type="checkbox"/> Agitação/irritabilidade  32   <input type="checkbox"/> Formigamento  33   <input type="checkbox"/> Miose  34   <input type="checkbox"/> Câimbras  35   <input type="checkbox"/> Dor no corpo (musculatura)  36   <input type="checkbox"/> Depressão  37   <input type="checkbox"/> Doenças cardiovasculares  38   <input type="checkbox"/> Câncer  39   <input type="checkbox"/> Palpitação cardíaca  40   <input type="checkbox"/> Lesão em glândulas salivares  41   <input type="checkbox"/> Malformações  42   <input type="checkbox"/> Hiperatividade</p>
16	<p>Alguém da família apresenta ou já apresentou algum desses sintomas ou doenças?  Caso afirmativo, quem? _____</p> <p>0   <input type="checkbox"/> Irritação ocular  1   <input type="checkbox"/> Leões na pele/Alergia  2   <input type="checkbox"/> Queimaduras na pele  3   <input type="checkbox"/> Náuseas/ânsia de vômito  4   <input type="checkbox"/> Catarro  5   <input type="checkbox"/> Dor abdominal  6   <input type="checkbox"/> Diarreia  7   <input type="checkbox"/> Digestão difícil  8   <input type="checkbox"/> Chiado/sibilos  9   <input type="checkbox"/> Asma  10   <input type="checkbox"/> Inflamações gástricas  11   <input type="checkbox"/> Doenças hepáticas  12   <input type="checkbox"/> Alterações na pressão arterial  13   <input type="checkbox"/> Infertilidade</p> <p>14   <input type="checkbox"/> Lacrimejamento  15   <input type="checkbox"/> Tonturas/Vertigens  16   <input type="checkbox"/> Tosse  17   <input type="checkbox"/> Falta de ar/dispneia  18   <input type="checkbox"/> Visão turva  19   <input type="checkbox"/> Tremores  20   <input type="checkbox"/> Vômitos  21   <input type="checkbox"/> Dor articulações  22   <input type="checkbox"/> Hepatite  23   <input type="checkbox"/> Artrose/osteoporose  24   <input type="checkbox"/> Doenças renais  25   <input type="checkbox"/> Doença respiratória  26   <input type="checkbox"/> Déficit de atenção  27   <input type="checkbox"/> Abortamentos  (principalmente filhos)</p> <p>28   <input type="checkbox"/> Dor de cabeça  29   <input type="checkbox"/> Suor excessivo  30   <input type="checkbox"/> Salivação  31   <input type="checkbox"/> Agitação/irritabilidade  32   <input type="checkbox"/> Formigamento  33   <input type="checkbox"/> Miose  34   <input type="checkbox"/> Câimbras  35   <input type="checkbox"/> Dor no corpo (musculatura)  36   <input type="checkbox"/> Depressão  37   <input type="checkbox"/> Doenças cardiovasculares  38   <input type="checkbox"/> Câncer  39   <input type="checkbox"/> Palpitação cardíaca  40   <input type="checkbox"/> Lesão em glândulas salivares  41   <input type="checkbox"/> Malformações  42   <input type="checkbox"/> Hiperatividade</p>
Com relação ao trabalho na lavoura:	
17	<p>Para tocar a lavoura, você considera que a sua saúde, em geral, é:</p> <p>0   <input type="checkbox"/> Muito boa  1   <input type="checkbox"/> Boa  2   <input type="checkbox"/> Regular</p> <p>3   <input type="checkbox"/> Ruim  4   <input type="checkbox"/> Muito ruim</p>
18	<p>Você considera que o seu trabalho traz algum tipo de risco para a saúde?</p> <p>0   <input type="checkbox"/> NÃO  1   <input type="checkbox"/> SIM - Por que? _____</p>
19	<p>Você tem algum problema físico por causa de acidente no trabalho?</p> <p>0   <input type="checkbox"/> NÃO  1   <input type="checkbox"/> SIM - Qual(is)? _____</p>
20	<p>Dores nas costas frequentes impedem de realizar alguma tarefa no trabalho?</p> <p>0   <input type="checkbox"/> NÃO  1   <input type="checkbox"/> SIM - Qual(is) tarefa(s)? _____</p>

21	Alguma outra dor lhe impede de realizar alguma tarefa no trabalho agrícola?	0  __  NÃO 1  __  SIM	Local da dor? _____ Tarefa: _____
22	Você tem falta de força para algum tipo de atividade no trabalho agrícola?	0  __  NÃO 1  __  As vezes 2  __  Sempre	Caso afirmativo, explique a atividade: _____
23	Nos últimos 6 meses, alguém da família que participa da lavoura ficou doente?	0  __  NÃO (pule para Q31) 1  __  SIM - Quem? _____	
24	Devido a isso:	0  __  Deixou de trabalhar algum dia 1  __  Trabalhou menos do que deveria 2  __  Continuou trabalhando normalmente	
25	Procurou ajuda médica:	0  __  NÃO 1  __  SIM	
26	Nos últimos 6 meses, alguém da família teve que deixar o trabalho agrícola para cuidar de pessoa doente?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Quem? _____	
27	Nos últimos 6 meses, alguém da família que participa da lavoura não foi trabalhar pelo menos 1 dia por mês por causa de ingestão excessiva de álcool?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Quem? _____	
28	Nos últimos 6 meses, alguém da família que participa da lavoura não foi trabalhar pelo menos 1 dia por mês por causa de uso de drogas ilícitas?	0  __  NÃO 1  __  SIM - Quem? _____	
29	Alguém que trabalha na lavoura já foi diagnosticado com problemas relacionados ao uso de agrotóxico?	0  __  NÃO 1  __  SIM	Quem? _____ Qual o problema? _____
<b>Em caso de uso de agrotóxicos, responda às próximas questões:</b>			
30	Desde quando utilizam agrotóxico / veneno / remédio na lavoura?	0  __  Menos de 2 anos 1  __  Entre 2 e 10 anos 2  __  Mais de 10 anos	
31	Especifique a forma de exposição ou o tipo de contato que você tem com o agrotóxico / veneno / remédio	0  __  Prepara a calda 1  __  Ajuda na aplicação 2  __  Limpa equipamentos - Onde? _____ 3  __  Lava a roupa do aplicador	4  __  Descarta embalagem 5  __  Reentrada 6  __  Outro: _____
32	Qual é a frequência de utilização dos agrotóxicos / venenos / remédios?	0  __  Diária 1  __  Semanal 2  __  Quinzenal	3  __  Mensal 4  __  Semestral 5  __  Anual
33	Após usar agrotóxico / veneno / remédio:	0  __  Toma banho imediatamente 1  __  Apenas se lava imediatamente	2  __  Toma banho algumas horas após aplicação 3  __  Lava-se algumas horas após aplicação 4  __  Não toma banho e não se lava
34	Quem manipula / aplica o agrotóxico:	0  __  Usa máscara 1  __  usa avental 2  __  usa botas	3  __  usa luvas de borracha ou plástico 4  __  usa chapéu de borracha ou plástico 5  __  Não usa proteção (EPI)
35	Como compra o agrotóxico?	0  __  com receituário 1  __  por conta própria	2  __  por orientação do vendedor 3  __  outros: _____

Investigação sobre casos de câncer na família			
36	Você tem ou já teve algum tipo de câncer?	0 __  NÃO (pule para Q40) 1 __  SIM - Qual? _____	
37	Há quantos anos teve o diagnóstico?	_____	
38	Qual foi o tipo de tratamento?	_____	
39	Alguém da família tem ou já teve algum tipo de câncer?	0 __  NÃO 1 __  SIM	2 __  Não sabe
40	Indique qual(is) familiar(es), o(s) tipo(s) câncer e idade do diagnóstico.		
	<b>Familiar:</b>	<b>Tipo de câncer:</b>	<b>Idade em que diagnosticou:</b>
	0 __  Avô Paterno		
	1 __  Avó Paterna		
	2 __  Tios Paternos - Quantos? _____		
	3 __  Tias Paternas - Quantas? _____		
	4 __  Primos Paternos - Quantos? _____		
	5 __  Primas Paternas- Quantas? _____		
	6 __  Avô Materno		
	7 __  Avó Materna		
	8 __  Tios Maternos - Quantos? _____		
	9 __  Tias Maternas - Quantas? _____		
	10 __  Primos Maternos- Quantos? _____		
	11 __  Primas Maternas - Quantas? _____		
	12 __  Pai		
	13 __  Mãe		
	14 __  Irmãos - Quantos? _____		
	15 __  Irmãs - Quantas? _____		
	16 __  Filhos - Quantos? _____		
	17 __  Filhas - Quantas? _____		
	18 __  Netos - Quantos? _____		
	19 __  Netas - Quantas? _____		
	18 __  Outro(s) Familiar(es)-Quais? _____ _____ _____		

MÓDULO 4. CONDIÇÃO DE SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL

4.1 Escala Brasileira de Insegurança Alimentar (EBIA)	SIM (0)	NAO (1)	NS (2)
1 Nos últimos três meses, <b>os moradores</b> deste domicílio tiveram a preocupação de que a comida acabasse antes que tivessem dinheiro para comprar mais comida?			
2 Nos últimos três meses, <b>os alimentos acabaram antes que os moradores</b> desse domicílio tivessem dinheiro para comprar mais comida?			
3 Nos últimos três meses, <b>os moradores</b> desse domicílio ficaram sem dinheiro para ter uma alimentação saudável e variada?			
4 Nos últimos três meses, os moradores deste domicílio comeram apenas alguns poucos tipos de alimentos que ainda tinham, porque o dinheiro acabou?			
5 Nos últimos três meses, <b>algum morador</b> de 18 anos ou mais deixou de fazer alguma refeição porque não havia dinheiro para comprar a comida?			
6 Nos últimos três meses, <b>algum morador</b> de 18 anos ou mais comeu menos do que achou que devia, porque não havia dinheiro para comprar comida?			
7 Nos últimos três meses, <b>algum morador</b> de 18 anos ou mais sentiu fome, mas não comeu porque não tinha dinheiro para comprar comida?			
8 Nos últimos três meses, <b>algum morador</b> de 18 anos ou mais ficou um dia inteiro sem comer ou teve apenas uma refeição ao dia, porque não tinha dinheiro para comprar comida?			
9 Nos últimos três meses, <b>os moradores com menos de 18 anos</b> não puderam ter uma alimentação saudável e variada, porque não havia dinheiro para comprar comida?			
10 Nos últimos três meses, <b>os moradores menores de 18 anos</b> , comeram apenas alguns poucos tipos de alimentos que ainda havia neste domicílio, porque o dinheiro acabou?			
11 Nos últimos três meses, <b>algum morador com menos de 18 anos</b> comeu menos do que você achou que devia, porque não havia dinheiro para comprar a comida?			
12 Nos últimos três meses, foi diminuída a quantidade de alimentos das refeições de <b>algum morador com menos de 18 anos</b> , porque não havia dinheiro suficiente para comprar comida?			
13 Nos últimos três meses, <b>algum morador com menos de 18 anos</b> deixou de fazer alguma refeição, porque não havia dinheiro para comprar a comida?			
14 Nos últimos três meses, <b>algum morador com menos de 18 anos</b> sentiu fome, mas não comeu porque não havia dinheiro para comprar mais comida?			

Classificação	Pontos de corte domicílios com pelo menos 1 morador menor 18 anos	Pontos de corte domicílios sem moradores menores 18 anos	DETALHE DAS PERGUNTAS DA EBIA:
0   ___   Segurança Alimentar	0	0	questões de 1 a 4 - situação de todos os moradores
1   ___   Insegurança Alimentar Leve	1 a 5	1 a 3	questões de 5 a 8 - <b>algum morador</b> de 18 anos ou +
2   ___   Insegurança Alimentar Moderada	6 a 9	4 a 5	questões 9 a 14 - moradores <b>com menos de 18 anos</b> , sendo 9 e 10 (todos menores)
3   ___   Insegurança Alimentar Grave	10 a 14	6 a 8	e 11 a 14 <b>algum morador</b>

4.2 INVESTIGAÇÃO ALIMENTAR PELO PREÇO DOS ALIMENTOS		
1 O(a) senhor(a) compra alimentos para sua casa?	0   ___   NÃO (ir para b)	1   ___   SIM
a) Se SIM, onde compra:	0   ___   Supermercado/Hipermercados 1   ___   Mercados/Mercearia 2   ___   Feiras	3   ___   Outros produtores 4   ___   Outros: _____
b) Se NÃO, como obtém os alimentos?:	0   ___   Cesta básica 1   ___   O que planta 2   ___   O que produz (gado, frango...)	3   ___   Caça/Pesca 4   ___   Doações 5   ___   Outros: _____
2 O senhor consome o que produz, ou vende?	0   ___   Consumo mais do que vendo (mais de 50%) 1   ___   Vendo mais do que consumo (mais de 50%)	2   ___   Os dois igualmente 3   ___   Outros:
3 No mês anterior, o(a) senhor(a) deixou de comprar algum alimento por causa do preço?	0   ___   NÃO 1   ___   SIM - Qual(is)? _____ 2   ___   Não Sabe 3   ___   Não Respondeu	
4 Considerando o preço dos alimentos hoje, o senhor diria que estão:	0   ___   Mais caros 1   ___   Mais baratos 2   ___   O mesmo preço	3   ___   Não Sabe 4   ___   Não Respondeu
5 Qual(is) alimento(s) não pode(m) faltar na casa do senhor(a)?	_____	

**MÓDULO 5. ANTROPOMETRIA E QFA**
**Antropometria**

Peso Atual (Kg): _____ Altura (m): _____	<b>Classificação quanto ao IMC (OMS 1995/97):</b>	<b>Classificação quanto à CC:</b>
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ): _____	0  __  Magreza grau III (<16)      4  __  Sobrepeso (25-29,99)	0  __  Risco aumentado
CC (cm): _____ CQ (cm): _____ Circ. Pescoço: _____	1  __  Magreza grau II (16-16,9)    5  __  Obeso I (30-34,99)	1  __  Risco substancialmente aumentado
% Gordura Corpórea: _____	2  __  Magreza grau I (17-18,4)    6  __  Obeso II (35-39,99)	
Pressão Arterial (mmHg): _____	3  __  Eutrófico (18,5-24,99)        7  __  Obeso III (≥40)	

**Questionário de Frequência de Consumo Alimentar**

I. Leite e produtos lácteos	todos os dias	3 a 6 vezes /semana	1 a 2 vezes/semana	1 a 2 vezes/mês	não come	*por quê 1 2 3 9
1. Leite integral (1 xícara cheia)	4	3	2	1	0	
2. Leite desnatado ou semi-desnatado (1 xícara cheia)	4	3	2	1	0	
3. Creme de leite (2 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
4. Iogurte natural/ polpa (1 pote) (integral/ light)	4	3	2	1	0	
5. Queijos brancos (fresco/ requeijão/ ricota) (2 fatias)	4	3	2	1	0	
6. Queijos amarelos (prato/ mussarela) (2 fatias)	4	3	2	1	0	
II. Carnes, pescados e ovos	todos os dias	3 a 6 vezes /semana	1 a 2 vezes/semana	1 a 2 vezes ao mês	não come	*por quê 1 2 3 9
7. Ovo (frito/ mexido/ poché) (1 unidade)	4	3	2	1	0	
8. Frango (cozido/ assado/ frito) (1 pedaço médio)	4	3	2	1	0	
9. Carne bovina (bife/ panela) (1 fatia grande/ 1 bife)	4	3	2	1	0	
10. Estrogonofe (1/2 concha)	4	3	2	1	0	
11. Panqueca de carne (2 unidades)	4	3	2	1	0	
12. Hambúrguer/ cheeseburger (1 unidade)	4	3	2	1	0	
13. Carne suína (lombo/ bisteca) (1 fatia média)	4	3	2	1	0	
14. Fígado (1 bife grande)	4	3	2	1	0	
15. Visceras de frango (miúdos) (1 porção)	4	3	2	1	0	
16. Mortadela, presunto (3 fatias)	4	3	2	1	0	
17. Lingüiça/ salsicha (1 gomo/ unidade)	4	3	2	1	0	
18. Bacon/ toucinho (1 fatia média)	4	3	2	1	0	
19. Peixe (cozido/ assado/ frito) (1 filé/ posta média)	4	3	2	1	0	
20. Atum/sardinha em conserva (4 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
21. Camarão (3 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
Frituras em geral	4	3	2	1	0	
Churrasco	4	3	2	1	0	

III. Verduras e legumes	todos os dias	3 a 6 vezes /semana	1 a 2 vezes/semana	1a 2 vezes ao mês	não come	*por quê 1 2 3 9
22. Alface/ escarola (4 folhas médias)	4	3	2	1	0	
23. Acelga (3/4 prato raso)	4	3	2	1	0	
24. Repolho (1 colher grande)	4	3	2	1	0	
25. Agrião/ Almeirão (1/2 prato raso)	4	3	2	1	0	
26. Brócolis/ couve-flor/ couve (2 ramos)	4	3	2	1	0	
27. Tomate (3 fatias médias)	4	3	2	1	0	
28. Cenoura (3 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
29. Abóbora (2 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
30. Alho/ cebola (3 colheres de chá/ 3 rodelas)	4	3	2	1	0	
31. Legumes: jiló/ berinjela/ pepino / chuchu/ Jiló (2 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
32. Legumes: abobrinha/ beterraba (2 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
33. Pimentão	4	3	2	1	0	
34. Legumes: Batata doce/ Batata inglesa/ Inhame/ Cará	4	3	2	1	0	
IV. Frutas e sucos naturais	todos os dias	3 a 6 vezes /semana	1 a 2 vezes/semana	1a 2 vezes ao mês	não come	*por quê 1 2 3 9
33. Laranjas/ Mexericas (1 unidade média)	4	3	2	1	0	
34. Suco de laranja (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
35. Suco de limão (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
36. Bananas (1 unidade média)	4	3	2	1	0	
37. Suco de maracujá (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
38. Abacaxi/ Suco (1 fatia média/ 1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
39. Maça/ Pêra (1 unidade média)	4	3	2	1	0	
40. Mamão papaya/ Suco (1/2 unidade/ 1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
41. Morangos (7 unidades médias)	4	3	2	1	0	
42. Caqui (1 unidade média)	4	3	2	1	0	
43. Abacate (1/2 unidade média)	4	3	2	1	0	
44. Melão/Melancia/ Suco (1 fatia média/ 1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
45. Suco de caju (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
46. Suco de acerola (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
47. Uvas (10 gomos)	4	3	2	1	0	
48. Manga/ Suco (1 unidade média/ 1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
49. Outras Frutas: pêssego/ figo/ ameixa (1 unidade média)	4	3	2	1	0	
50. Oleaginosas (amendoim, castanhas) (2 punhados)	4	3	2	1	0	
51. Azeitonas (6 unidades)	4	3	2	1	0	



<b>V. Pães cereais, tubérculos e leguminosas</b>	<b>todos os dias</b>	<b>3 a 6 vezes /semana</b>	<b>1 a 2 vezes/semana</b>	<b>1a 2 vezes ao mês</b>	<b>não come</b>	<b>*por quê 1 2 3 9</b>
52. Pão francês (1 unidade)	4	3	2	1	0	
53. Pão de forma/ caseiro/ bisnaga (2 fatias)	4	3	2	1	0	
54. Pão integral/ diet (2 fatias)	4	3	2	1	0	
55. Cereais matinais (1 copo pequeno cheio)	4	3	2	1	0	
56. Milho verde (2 colheres de sobremesa)	4	3	2	1	0	
57. Batata cozida/ purê/ assada (1 unidade pequena)	4	3	2	1	0	
58. Batatas fritas (1 colher grande cheia)	4	3	2	1	0	
59. Arroz cozido (1 escumadeira média)	4	3	2	1	0	
60. Polenta (2 colheres grandes)	4	3	2	1	0	
61. Mandioca cozida (1 colher grande)	4	3	2	1	0	
62. Farinhas/ farofa (2 colheres de sopa)	4	3	2	1	0	
63. Macarrão/ massas/ instantâneo (2 escumadeiras)	4	3	2	1	0	
64. Feijão cozido (1 concha média)	4	3	2	1	0	
65. Feijão branco/ ervilha/ lentilha (1 concha média)	4	3	2	1	0	
<b>VI. Óleos e gorduras</b>	<b>todos os dias</b>	<b>3 a 6 vezes /semana</b>	<b>1 a 2 vezes/semana</b>	<b>1a 2 vezes ao mês</b>	<b>não come</b>	<b>*por quê 1 2 3 9</b>
67. Óleo de soja/ milho/ canola/ girassol (1 colher de sopa)	4	3	2	1	0	
68. Margarina (1 colher de chá)	4	3	2	1	0	
69. Manteiga (1 colher de chá)	4	3	2	1	0	
70. Gordura de porco/ Banha de porco/ Toucinho/ Bacon	4	3	2	1	0	
<b>VII. Doces, salgadinhos e guloseimas</b>	<b>todos os dias</b>	<b>3 a 6 vezes /semana</b>	<b>1 a 2 vezes/semana</b>	<b>1a 2 vezes ao mês</b>	<b>não come</b>	<b>*por quê 1 2 3 9</b>
71. Chocolates variados (1 barra pequena/ 1 bombom)	4	3	2	1	0	
72. Achocolatado (1 colher de sopa)	4	3	2	1	0	
73. Sobremesas cremosas (pudim/ manjar) (1 fatia pequena)	4	3	2	1	0	
74. Doce de frutas (calda/ barra) (1 colher grande/ 2 unidades)	4	3	2	1	0	
75. Sorvetes cremosos (1 bola grande)	4	3	2	1	0	
76. Doces de bar (amendoim/ leite/ suspiro) (1 ½ unidade)	4	3	2	1	0	
77. Salgadinhos de bar (esfiha/ coxinha/ pastel) (1 unidade)	4	3	2	1	0	
78. Biscoito salgado água e sal/ cream cracker (5 unidades)	4	3	2	1	0	
79. Biscoito doce maisena /leite/ maria (5 unidades)	4	3	2	1	0	
80. Biscoito doce recheado (4 unidades)	4	3	2	1	0	
81. Bolo simples (1 fatia média)	4	3	2	1	0	
82. Bolo/torta recheado/ com frutas (1 fatia grande)	4	3	2	1	0	



83. Torta salgada (1 fatia grande)	4	3	2	1	0	
84. Pizza (2 pedaços)	4	3	2	1	0	
85. Pão de queijo (2 unidades médias)	4	3	2	1	0	
<b>VIII. Bebidas</b>	<b>todos os dias</b>	<b>3 a 6 vezes /semana</b>	<b>1 a 2 vezes/semana</b>	<b>1a 2 vezes ao mês</b>	<b>não come</b>	<b>*por quê 1 2 3 9</b>
86. Refrigerantes (cola/ limão/ laranja/ guaraná) (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
87. Cerveja (1 lata)	4	3	2	1	0	
88. Vinho (1 taça pequena)	4	3	2	1	0	
89. Outras bebidas alcoólicas: pinga/ uísque (1 dose)	4	3	2	1	0	
90. Chá mate/ preto infusão (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
91. Café (com açúcar/ sem açúcar) (2 copos pequenos)	4	3	2	1	0	
92. Suco artificial em pó (1 copo 250 ml)	4	3	2	1	0	
93. Suco de caixinha	4	3	2	1	0	
<b>IX. Preparações e Miscelâneas</b>	<b>todos os dias</b>	<b>3 a 6 vezes /semana</b>	<b>1 a 2 vezes/semana</b>	<b>1a 2 vezes ao mês</b>	<b>não come</b>	<b>*por quê 1 2 3 9</b>
94. Açúcar para adição (2 colheres de chá)	4	3	2	1	0	
95. Sopa legumes/ feijão/ canja (2 conchas médias)	4	3	2	1	0	
96. Molho de Maionese (1 colher de sopa)	4	3	2	1	0	
97. Salada de legumes com maionese (1 escumadeira)	4	3	2	1	0	
98. Molhos industrializados: catchup/ mostarda (1 colher de sopa)	4	3	2	1	0	
99. Molho de tomate (1 ½ colher de sopa)	4	3	2	1	0	
100. Extrato de soja (1/2 xícara de chá)	4	3	2	1	0	
Outros: _____	4	3	2	1	0	

* LEGENDA - POR QUÊ NÃO CONSOME	
1	não tem o hábito
2	não gosta
3	acha caro (preço)
9	Não sabe ou recusa responder

