



NÍVEIS DE TIÓIS NO TECIDO MUSCULAR DE RATOS WISTAR EXPOSTOS A DOSE DE INGESTÃO DIÁRIA ACEITÁVEL (IDA) DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO ¹

**Letícia Mariá Cassol Görck², Juliana Furlanetto Pinheiro ³, Rafaela Quintana Probst⁴,
Diovana Gelati de Batista⁵, Vítor Antunes de Oliveira⁶, Pauline Brendler Goettens
Fiorin⁷**

¹ Projeto Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI).

² Estudante do curso de Medicina da UNIJUI. Bolsista do programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - PROBIC/PROBITI-FAPERGS. E-mail: leticia_gorck@sou.unijui.edu.br

³ Estudante do curso de Medicina da UNIJUI. Bolsista do programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - PROBIC/PROBITI-FAPERGS. E-mail: juliana.pinheiro@sou.unijui.edu.br

⁴ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF). E-mail: rafaela.probst@sou.unijui.edu.br

⁵ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional - UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF). E-mail: diovana.batista@sou.unijui.edu.br

⁶ Professor do Programas de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUI). E-mail: vito.antunes@unijui.edu.br

⁷ Professor do Programas de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUI). E-mail: pauline.goettens@unijui.edu.br

INTRODUÇÃO

Os herbicidas à base de glifosato (HBGs) são agrotóxicos que pertencem ao grupo das glicinas substituídas, agindo na inibição da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintetase (EPSPS), a qual está presente apenas em plantas e certas bactérias (Gallegos *et al.*, 2018). Desse modo, tem sido um importante herbicida utilizado amplamente no mundo todo. Porém, seus compostos podem se acumular no ar, no solo e, como consequência, nos recursos hídricos e alimentos (Mohammadi *et al.*, 2021). Em diferentes dosagens e tempos de exposição, os HBGs podem provocar efeitos adversos à saúde animal e humana (Mehtiyev *et al* 2023). A partir disso, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou uma dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) do herbicida para humanos, a qual consiste em 0,5 mg/kg de peso corporal (pc) por dia (ANVISA, 2021).

O aumento no uso de HBGs ao longo dos anos gerou grandes preocupações sobre seus possíveis efeitos tóxicos (Mehtiyev *et al* 2023). Sabendo que os HBGs apresentam um



efeito significativo na proliferação celular e no estresse oxidativo, o objetivo deste trabalho foi verificar se a dose de IDA do glifosato altera o perfil oxidativo do tecido muscular de ratos Wistar machos adultos.

METODOLOGIA

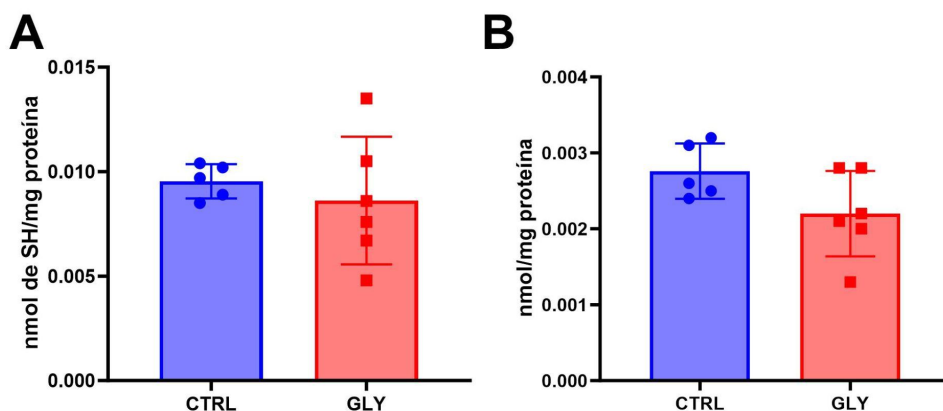
Foram utilizados 12 ratos Wistar, machos adultos, provenientes do biotério da UNIJUÍ, divididos nos grupos controle (CTRL, n=6), que recebeu apenas água de consumo, e glifosato (GLY, n=6), que recebeu a dose de IDA (0,5 mg/kg/dia) via água de consumo por 12 semanas (CEUA, protocolo nº 025-19). Foi utilizado uma formulação comercial de HBG (Roundup® Original DI), contendo 445 g/L de sal de diamônio de N- fosfonmetil glicina (44,5% m/v, princípio ativo) e 370 g/L do equivalente ácido de N-fosfonometil glicina (37% m/v). O controle do consumo hídrico foi realizado semanalmente. A quantidade de HBG ofertada na água de consumo foi calculada semanalmente, considerando o peso corporal médio dos animais e o volume médio de ingestão diária de água, de modo a garantir que os animais estavam expostos a concentrações equivalentes à dose de IDA.

Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados, sendo realizada a coleta do músculo gastrocnêmio. O tecido foi congelado e armazenado em freezer para as análises de estresse oxidativo e estresse celular. Para avaliar a resposta antioxidante, foram determinados os níveis de tióis totais e não proteicos (Erel *et al*, 2014). A dosagem de proteínas foi mensurada pelo método de Bradford (Bradford, 1976). Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posterior ao teste T não pareado ou Mann-Whitney, por meio do programa estatístico GraphPad versão 10.0, considerando significativo $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram que a IDA de HBG não induziu alterações nos níveis de tióis ($P = 0,536$, Figura IA), bem como, nos níveis de tióis não proteicos do músculo gastrocnêmio. ($P = 0,088$, Figura IB) do músculo gastrocnêmio.

Figura I - “Níveis de Tióis no tecido muscular de ratos Wistar expostos a dose de ingestão diária aceitável de herbicida à base de glifosato”.



Fonte: Elaborado pelos próprios autores, 2023. A) Níveis de tióis no tecido muscular. $P=0,536$. B) Níveis de tióis não proteicos do músculo gastrocnêmio. $P=0,088$. CTRL, grupo controle. GLY, grupo exposto à dose de IDA de HBG.

O balanço redox é um controlador fisiológico de funções celulares e um mecanismo de resposta ao estresse. Quando há um desequilíbrio nesta reação, com redução da capacidade antioxidante, ocorre o desenvolvimento do estresse oxidativo e, conseqüentemente, a toxicidade celular. Nesse contexto, os tióis representam uma parte crucial da quantidade total de antioxidantes e têm um papel significativo na remoção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Korkmaz *et al.*, 2021), uma vez que dois grupos tiol formam uma ligação dissulfeto em seu processo antioxidante (Ozawa *et al.*, 2022).

Sabe-se que a exposição a doses elevadas e sub-letais de HBG causa efeitos disruptivos no organismo, com potencial de hepatotoxicidade (El-shenawy, 2019). No entanto, a segurança de doses aceitáveis de exposição também vem sendo questionada. Em estudo com camundongos expostos a baixas dosagens de HBG, houve desregulação endócrina com prejuízo no sistema reprodutor masculino (Pham *et al.*, 2019), e exposições a doses relativamente mais altas, como a IDA dos EUA (1.75 mg/kg de pc) afetam significativamente a composição da microbiota intestinal (Lehman *et al.*, 2023). Em nosso estudo, ao avaliar o tecido muscular, no tempo de exposição de 12 semanas, não verificamos alterações na defesa antioxidante pela exposição à dose de IDA. No entanto, como a defesa antioxidante não depende apenas dos tióis, outros marcadores também precisam ser analisados.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

A exposição ao herbicida à base de glifosato, na dose de IDA, não induziu alterações em marcador de capacidade antioxidante muscular em ratos Wistar.

Palavras-chave: Herbicidas a Base de Glifosato. Estresse oxidativo. Tiol. Antioxidantes. Músculo gastrocnêmio.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao Programa de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC CNPq, PIBIC UNIJUI, PIBIT CNPq, PIBIT UNIJUI, PROBIT FAPERGS, PROBIC FAPERGS), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, ao PPGAIS e ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) pela concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. NOTA TÉCNICA Nº 12 de 2021. Apresenta as conclusões da reavaliação do Glifosato após a consolidação das contribuições [...]. 2021

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

EREL O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem*. 2014;47(18):326-32.

EL-SHENAWY, N. S. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2009, 28(3): 379-385.

GALLEGOS, Cristina Eugenia et al. Perinatal glyphosate-based herbicide exposure in rats alters brain antioxidant status, glutamate and acetylcholine metabolism and affects recognition memory. *Neurotoxicity Research*, v. 34, n. 3, p. 363-374, 2018.

KORKMAZ, Ahmet et al. Níveis de Tiol Sérico e Homeostase Tiol/Dissulfeto em Pacientes com Doença Valvar Mitral Reumatisal e em Sujeitos Saudáveis. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 117, p. 437-443, 2021.

LEHMAN, P. C. et al. Low-dose glyphosate exposure alters gut microbiota composition and

modulates gut homeostasis. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2023 Jun;100:104149.

MEHTIYEV, Toghrul et al. Alterations in cell viability, reactive oxygen species production, and modulation of gene expression involved in mitogen-activated protein kinase/extracellular regulating kinase signaling pathway by glyphosate and its commercial formulation in hepatocellular carcinoma cells. *Toxicology and Industrial Health* 2023, Vol. 39(2) 81–93.

MOHAMMADI, Keyhan et al. A systematic review and meta-analysis of the impacts of glyphosate on the reproductive hormones. *Environmental Science and Pollution Research*, p. 1-12, 2021.

OZAWA, Hitoshi et al. *Biological Functions of Antioxidant Dipeptides*. p. 1-28, 2022.

PHAM, T. H. et al. Perinatal Exposure to Glyphosate and a Glyphosate-Based Herbicide Affect Spermatogenesis in Mice. *Toxicol Sci.* 2019 May 1;169(1):260-271.

PRASAD, Monisha et al. Impact of Glyphosate on the Development of Insulin Resistance in Experimental Diabetic Rats: Role of NFκB Signalling Pathways. *Antioxidants* 2022, 11, 2436.