



## **ESTRESSE OXIDATIVO DO TECIDO MUSCULAR DE RATOS WISTAR EXPOSTOS A INGESTÃO DA DOSE DIÁRIA ACEITÁVEL DE GLIFOSATO E A DIETA HIPERLIPÍDICA<sup>1</sup>**

**Letícia Mariá Cassol Görck<sup>2</sup>, Juliana Furlanetto Pinheiro<sup>3</sup>, Lucas Machado Sulzbacher<sup>4</sup>,  
Rafaela Quintana Probst<sup>5</sup>, Diovana Gelati de Batista<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>, Pauline  
Brendler Goettens Fiorin<sup>8</sup>**

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

<sup>2</sup> Estudante do curso de Medicina da UNIJUI. Bolsista PIBIC CNPq. E-mail: leticia.gorck@sou.unijui.edu.br

<sup>3</sup> Estudante do curso de Medicina da UNIJUI. Bolsista PROBIC/PROBITI-FAPERGS. E-mail: juliana.pinheiro@sou.unijui.edu.br

<sup>4</sup> Enfermeiro, Mestre pelo PPGAIS - UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF). E-mail: lucas.sulzbacher@unijui.edu.br

<sup>5</sup> Mestranda do PPGAIS - UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF). E-mail: rafaela.probst@sou.unijui.edu.br

<sup>6</sup> Doutoranda do PPMC - UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF). E-mail: diovana.batista@sou.unijui.edu.br

<sup>7</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUI). E-mail: thiago.heck@unijui.edu.br

<sup>8</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUI). E-mail: pauline.goettens@unijui.edu.br

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos no mundo, devido ao aumento da produtividade agrícola e à utilização de sementes transgênicas (Diniz et al., 2023). O herbicida à base de glifosato (HBG) é amplamente utilizado para combater plantas daninhas, sendo parcialmente absorvido pelas plantas e pelo solo (Teleken et al., 2019).

A exposição prolongada ao HBG pode ter efeitos tóxicos à saúde humana e animal (Mohammadi et al., 2021). Sendo assim, a ANVISA estabeleceu uma dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0,5 mg/kg de peso corporal por dia (ANVISA, 2021).

Além disso, há preocupações com a obesidade e doenças secundárias, associadas à ingestão alimentar excessiva, com alto teor de gorduras, levando a redução da captação de glicose pelos músculos esqueléticos, o que pode levar ao desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

Nesse cenário, o músculo gastrocnêmio é especialmente vulnerável ao estresse oxidativo devido ao seu tipo de fibras (Guyton & Hall, 2011). O estresse oxidativo e a sarcopenia agravam a resistência à insulina, enquanto a gordura intramuscular e visceral intensifica a inflamação e a disfunção metabólica, aumentando o risco de DM2.

Contudo, pouco se sabe sobre os impactos combinados da IDA de HBG e de uma



dieta hiperlipídica nos tecidos musculares (Beuret et al., 2005). A partir disso, o objetivo do projeto é verificar se a dose de IDA de HBG, associada ao consumo de uma dieta hiperlipídica, provoca alterações no perfil metabólico e oxidativo das fibras musculares do gastrocnêmio de ratos Wistar machos adultos.

Este trabalho está alinhado aos ODS 3 da ONU, Saúde e Bem-estar, vistas a preocupação quanto à exposição a possíveis agentes nocivos à saúde, como HBG, e consumo de dietas hiperlipídicas.

## **METODOLOGIA**

Utilizou-se 21 ratos Wistar, machos adultos, provenientes do biotério da UNIJUÍ (CEUA, protocolo nº 025-19). Os mesmos foram separados em caixas contendo três animais/cada, em quatro grupos, sendo: grupo controle (CTRL, n=3), grupo glifosato (GLY, n=3), grupo dieta hiperlipídica (DHL, n=6), grupo glifosato juntamente com a dieta hiperlipídica (GLY + DHL, n=9).

A exposição ao herbicida foi realizada por meio da oferta hídrica. Para o grupo CTRL foi ofertado ração padrão e água de consumo, sem adição de qualquer substância. Para os grupos expostos ao glifosato (GLY e DHL + GLY adicionou-se na água das mamadeiras a dose de IDA de glifosato, além disso, o grupo GLY recebeu ração padrão, enquanto os grupos DHL e DHL + GLY receberam ração hiperlipídica. Os animais foram expostos ao herbicida e a dieta hiperlipídica por 12 semanas.

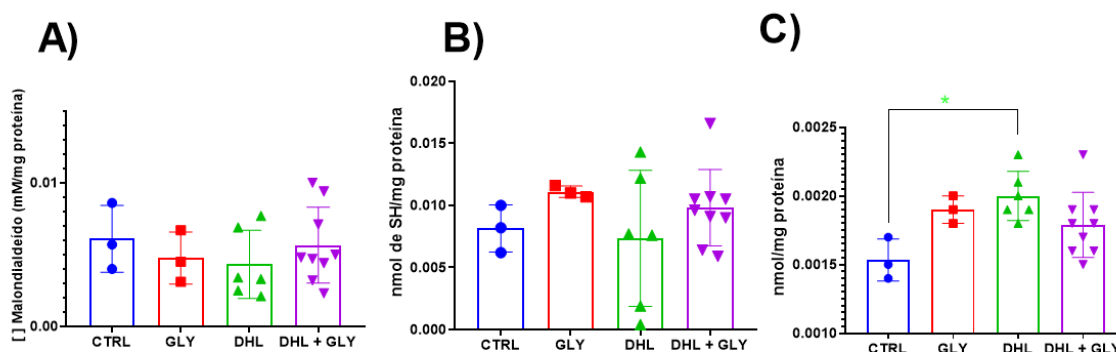
Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados, sendo realizada a coleta do músculo gastrocnêmio. O tecido foi congelado e armazenado em freezer para as análises de perfil metabólico e oxidativo. Para avaliar a resposta antioxidante, foram determinados os níveis de tióis totais e não proteicos (Erel et al, 2014) e os níveis de peroxidação lipídica, conforme método de Buege (1978). Para análise da concentração de proteínas, foi realizado o método de Bradford (1976). Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e posterior ao teste Anova de uma via, seguido do teste de Múltiplas Comparações de Tukey. Os dados foram analisados por meio do programa estatístico GraphPad versão 8.0, considerando significativo  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**



Na avaliação do perfil oxidativo, foi observado que a IDA de HBG não induziram alterações tanto nos níveis de peroxidação lipídica ( $P < 0,6662$ ) (Figura 1A), quanto nos níveis de tióis totais ( $P < 0,4550$ ) (Figura 1B). Contudo, foi possível observar que a DHL, comparada ao grupo controle, aumentou os níveis de tióis não protéicos ( $P < 0,0195$ ) (Figura 1C).

**Figura I** - Perfil oxidativo do tecido muscular de ratos Wistar expostos à IDA de HBG e DHL.



**Fonte:** Os autores, 2024. A) Níveis de peroxidação lipídica do músculo gastrocnêmio.  $P < 0,6662$ . B) Níveis de tióis totais do músculo gastrocnêmio.  $P < 0,4550$ . C) Níveis de tióis não proteicos do músculo gastrocnêmio.  $P < 0,0195$ .

O músculo gastrocnêmio é crucial para a sustentação da postura, e composto por fibras oxidativas, sendo mais suscetível ao estresse oxidativo pelo seu tipo de metabolismo muscular (Guyton & Hall, 2022)., o que, conseqüentemente, associado a uma condição de obesidade, por consumo de dietas hiperlipídicas, e outros fatores de risco, como HBG, pode contribuir no desenvolvimento de doenças metabólicas.

Em relação ao perfil oxidativo, observamos que o músculo apresenta aumento dos níveis de tióis não protéicos no grupo que recebeu apenas DHL. A glutathiona (GSH) é um tiol não protéico presente e seu papel intracelular antioxidante inclui a desintoxicação de xenobióticos e de ERO (Goulart et al., 2007). O aumento de GSH no músculo indica um possível mecanismo de defesa aos efeitos pró-oxidativos promovidos pelo consumo de DHL. Os animais que fizeram o consumo da IDA ou a associação, não apresentaram esta resposta, porém, também não tiveram aumento nos níveis de lipoperoxidação.

A obesidade, que pode ser induzida por DHL, é considerada o resultado do acúmulo excessivo de gordura no corpo, contribuindo para a resistência à captação de glicose mediada por insulina, levando ao desenvolvimento da DM2 (Robertson et al., 2024).





Sendo assim, os lipídios nos músculos interferem na função muscular e na regulação da glicose, intensificando o ciclo de resistência à insulina e disfunção metabólica. Contudo, o HBG também pode interferir na homeostase metabólica, aumentando a adiposidade corporal e a resistência à insulina (Evangelou et al. 2016; Muscogiuri et al. 2017). Além disso, o HBG pode interferir no funcionamento de proteínas que dependem de resíduos de glicina, afetando o metabolismo de aminoácidos e a regulação dos receptores de glutamato (Rezende et al. 2018).

Além dos resultados do perfil oxidativo expostos acima, avaliamos os níveis de proteína muscular. Nossos resultados demonstram que tanto a IDA de HBG, alterou a concentração de proteínas do músculo gastrocnêmio, quando comparado ao grupo controle, bem como o grupo dieta hiperlipídica e o grupo DHL+GLY, quando comparados ao grupo controle. Neste âmbito, observou-se que ambas as condições nocivas às quais estão expostos podem alterar os níveis de proteínas musculares, não sendo a condição exacerbada quando associado os dois fatores.

Esta condição, associada a outros efeitos decorrentes da exposição podem contribuir para o desenvolvimento de doenças, como, por exemplo, as doenças metabólicas, como citado anteriormente. A utilização dos mecanismos de defesa antioxidantes e antiinflamatórios é crucial para evitar que alterações biométricas e metabólicas conduzam para o desenvolvimento de doenças crônicas.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados deste estudo indicam que a ingestão de dieta hiperlipídica alterou o perfil oxidativo do músculo gastrocnêmio, o que não foi possível verificar nos animais expostos a IDA de HBG ou na associação de ambos. No entanto, observou-se que essas condições podem afetar negativamente os níveis de proteínas musculares, potencialmente contribuindo para o desenvolvimento de doenças metabólicas, ressaltando a importância de investigações adicionais para compreender melhor esses mecanismos.

**Palavras-chave:** Herbicida à Base de Glifosato. Dieta Hiperlipídica. Músculo Gastrocnêmio. Estresse Oxidativo. Diabetes.



## 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. E ao financiamento do CNPq proc. 405546/2023-8.

## 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.
- BUEGE, John A.; AUST, Steven D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: *Methods in enzymology*. Academic press, 1978. p. 302-310.
- EREL O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem*. 2014;47(18):326-32.
- EVANGELOU, E. et al. Exposure to pesticides and diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Environment International*, v. 91, p. 60–68, 2016.
- DINIZ, Caroline Maria. Efeitos da exposição crônica de parentais do peixe *Poecilia reticulata* (Peter, 1859) ao herbicida à base de glifosato, com ênfase em mortalidade e marcadores bioquímicos na prole. 2023.
- GOULART et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quím. Nova* 30 (5). Out 2007
- HALL, John E.; HALL, Michael E. *Guyton & Hall Fundamentos de Fisiologia*. [Digite o Local da Editora]: Grupo GEN, 2023. E-book. ISBN 9788595159518. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595159518/>.
- 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.
- MUSCOGIURI, G. et al. Obesogenic endocrine disruptors and obesity: myths and truths. *Archives of Toxicology*, n. 0123456789, 2017.
- REZENDE, Eva Caroline Nunes et al. Organismos geneticamente modificados e o impacto sistêmico do ingrediente glifosato. 2018.
- ROBERTSON, Paul et al. Diabetes Mellitus tipo 2: prevalência e fatores de risco. 2024.
- TELEKEN, Jakeline Liara et al. Glyphosate-based herbicide exposure during pregnancy and lactation malprograms the male reproductive morphofunction in F1 offspring. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, v. 11, n. 2, p. 146-153, 2020.