



Evento: XXXIII Seminário de Iniciação Científica ▾

EFEITOS DA DOSE DE INGESTÃO DIÁRIA ACEITÁVEL DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO SOB A MASSA CORPORAL, O CONSUMO DE RAÇÃO E ÁGUA E A VIABILIDADE DOS LINFÓCITOS DE RATAS WISTAR¹

Laura Braun Eickhoff², Samara Cristine Knebel³, Laura Schleder Correa⁴, Diovana Gelati de Batista⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷,

¹ Projeto de pesquisa institucional do Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIUI).

² Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIUI, Estudante do curso Medicina; Bolsista do programa de fomento: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq

³ Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIUI, Programa de Pós Graduação em Atenção Integral à Saúde, Mestranda do projeto, samara.knebel@sou.unijui.edu.br

⁴ Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIUI, Programa de Pós Graduação em Atenção Integral à Saúde, Doutoranda do projeto, laura.schleder@sou.unijui.edu.br

⁵ Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS, Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional - PPGMMC. Bolsista CNPq de pós-doutorado (PDE).

⁶ Professor (a) Dr. orientador(a) do projeto Efeitos da Maca Peruana (*Lepidium Meyenii* Walp) sobre a Resposta Celular ao Estresse e sua Relação com Consumo Alimentar, Parâmetros Comportamentais, Bioquímicos e Hematológicos, em Ratas Ovariectomizadas. Professora do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde- PPGAIS (UNICRUZ/UNIUI/URI). Doutora em Fisiologia Humana pela UFRGS.

⁷ Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS, Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional -PPGMMC, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIUI/ INCT (In)atividade Física e Exercício, CNPq, Brasil.

INTRODUÇÃO

O Glifosato, N-(fosfonometil) glicina, é o herbicida mais usado no mundo. É um biocida sistêmico não seletivo com atividade de amplo espectro e foi introduzido em 1974 para o controle de plantas daninhas em campos de produção agrícola. O uso agrícola de herbicidas à base de glifosato (HBGs) aumentou desde a introdução de culturas geneticamente modificadas e tolerantes a herbicidas em 1996 (Costas-Ferreira, Durán, Faro, 2022). Tendo em vista o amplo uso, a ANVISA determinou uma dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) do herbicida para humanos, que é de 0,5 mg/kg de peso corporal (pc) por dia. (ANVISA, 2018, p.1).

Pessoas expostas ao Glifosato por meio de alimentos, água, ar e contato direto podem sofrer consequências para a saúde, incluindo o risco de neurotoxicidade, disfunção endócrina e desenvolvimento de doenças cancerígenas (Franco et al. 2024). Em mamíferos, incluindo humanos, o glifosato tem principalmente efeitos citotóxicos e genotóxicos, afetando



as funções dos linfócitos e as interações entre microrganismos e o sistema imunológico. (Peillex e Pelletier, 2020).

Portanto, o objetivo desse estudo é investigar possíveis repercussões geradas por alterações metabólicas provocadas pela exposição aos HBGs na dose de IDA, em específico o potencial obesogênico (via alteração de massa corporal), distúrbios alimentares e de consumo hídrico, e viabilidade celular de linfócitos em ratos Wistar. , o estudo se alinha ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3 da ONU, que visa “assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades” (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS, 2015).

METODOLOGIA

Neste estudo, 12 ratos Wistar fêmeos jovens, provenientes do biotério da UNIJUÍ fora divididos em grupo Controle e grupo Glifosato. Os animais do grupo Glifosato receberam em sua água, por 12 semanas, uma concentração de glifosato suficiente para representar a IDA (0,5 mg/kg). Os animais foram monitorados quanto ao peso corporal (uma vez na semana), consumo hídrico e de ração (três vezes na semana). Ao final do estudo, os animais foram eutanasiados por sobredose anestésica para coleta dos tecidos e experimentos com cultura de linfócitos. (CEUA-UNIJUÍ 028;24).

A viabilidade celular foi estimada com corante azul tripan e contagem em Câmara de Neubauer. O número de células vivas foi estimado considerando a diluição (geralmente 1:5) expresso em 10^4 cél/ml O cálculo de viabilidade celular foi obtido através do número de células vivas pelo número total de células.

Os dados obtidos foram avaliados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e, para variáveis com distribuição normal e variâncias homogêneas, foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) de duas vias. A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$. Para comparações simples entre as médias dos grupos, foi utilizado Teste T não-pareado. Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão (GraphPad Prism).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição ao glifosato na dose IDA, estabelecida pela Anvisa, não demonstrou alterar a massa corporal dos animais durante as 12 semanas de exposição (Figura 1). Um estudo piloto examinou a exposição a HGBs (dose de 1,75 mg/kg), e observou que esta dose

afeta o desenvolvimento e o sistema endócrino em diferentes estágios da vida em ratos Sprague Dawley, porém também não encontraram efeitos no peso corporal dos animais (Manservisi et al. 2019).

Figura 1 Peso dos animais no tempo basal e na 12ª semana de experimento

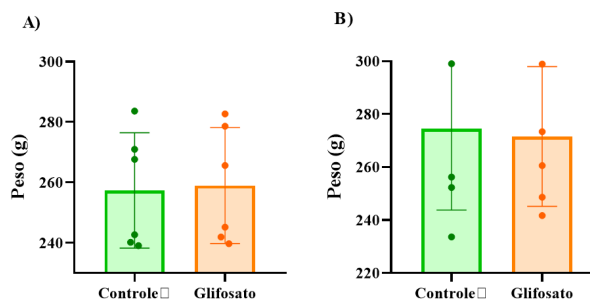


Fig 1. Peso corporal (g) dos animais durante o experimento. A) Peso basal. $P=0,889$. B) Peso na semana 12 do experimento. $P = 0,858$. Teste T não-pareado utilizado em ambos.

O consumo hídrico do grupo exposto (Glifosato) apresentou uma ingestão média reduzida, em comparação com o grupo não exposto (Controle). Por outro lado, o consumo de ração dos animais expostos não sofreu alteração (Figura 2). Referente ao assunto, um estudo realizado com ratas fêmeas expostas ao Glifosato, o consumo de água foi reduzido no grupo exposto (Ojira et al., 2023). Em contrapartida, um experimento realizado com ratos Wistar expostos ao Glifosato na dose de 0,7 mg/L durante 30 e 90 dias observou que a exposição não modificou o padrão de ingestão hídrica (Larsen, et al., 2012).

Figura 2. Consumo hídrico e de ração dos animais.

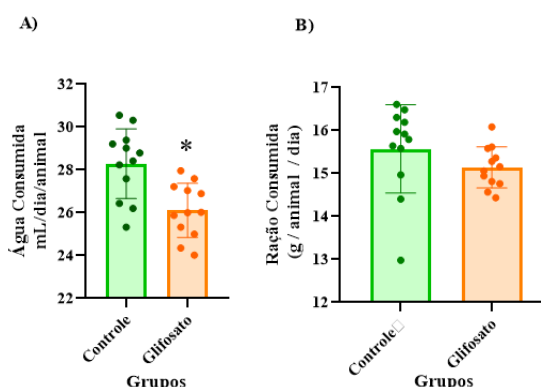


Fig 2. A) Consumo hídrico dos animais (média $\pm$ DP). Há uma redução do consumo de água do grupo Glifosato (Controle = $28,29 \pm 1,630$ mL; Glifosato = $26,11 \pm 1,269$ mL; Teste T não-pareado * $P = 0,0014$). B) Consumo de ração dos animais (média $\pm$ DP). (Controle = $15,57 \pm 1,028$ g; Glifosato = $15,14 \pm 0,477$ g; Teste T não-pareado $P = 0,2001$).

A Figura 3 refere-se à viabilidade celular dos linfócitos dos grupos no tempo basal (ou seja, antes da exposição dos linfócitos ao choque térmico e a incubação), e após o choque térmico de 2h a 37°C e a 42°C seguido de 6 horas de incubação da placa de cultura na incubadora à 5% de CO₂.



Figura 3. Viabilidade celular dos linfócitos no tempo basal, após o choque térmico (37°C e 42°C) e a incubação das células.

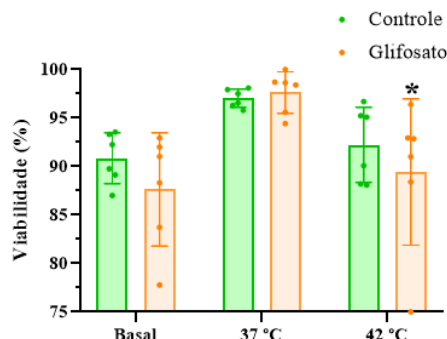


Fig 3. Viabilidade celular dos animais do tempo basal (n=12), após à incubação a 37°C (n=12) e após o choque térmico a 42°C e à incubação a 37°C (n=12). Tempo basal.(Controle = 90,84 % ± 2,62 e Glifosato = 87,64 % ± 5,85; p=0,2496). Incubação a 37°C (Controle = 97,03 % ± 0,94 e Glifosato = 97,63 % ± 2,13; p = 0,5431). Choque térmico a 42°C e à incubação (Controle = 92,24 % ± 3,87 e Glifosato = 89,43 % ± 7,54; p = 0,4364). ANOVA de duas vias, pós teste de múltiplas comparações de Tukeys, p=0,03, (37°C Glifosato vs 42 °C Glifosato).

Assim, observamos que a exposição oral ao glifosato na dose de IDA durante 12 semanas alterou a viabilidade dos linfócitos quando associada ao choque térmico (42 °C). Publicações têm se concentrado no efeito da hipertermia em distintas vias de sinalização celular, particularmente aquelas envolvidas na "resposta ao choque térmico", regulação do ciclo celular e apoptose (Hildebrandt, et al. 2002). Um estudo demonstrou que o glifosato induziu efeitos citotóxicos no desenvolvimento neuronal e morte celular por meio de vias apoptóticas (Martínez, et al. 2020).

Ainda, realizamos a análise da relação do número de células do linfonodo pelo peso corporal dos animais, a fim de verificar se o tratamento com Glifosato na dose IDA modificaria essa relação. A exposição ao Glifosato na dose IDA não alterou a relação do número de células pelo peso do animal (Controle = 148,1 ± 43,79 e Glifosato = 139,8 ± 74,32; Unpaired T Test; p= 0,8200).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dose de IDA de HBG reduz o consumo hídrico de ratas Wistar e prejudica a viabilidade celular de linfócitos submetidos a choque térmico, porém sem induzir alterações nos parâmetros de consumo de ração e massa corporal. Esses resultados, somados aos efeitos negativos de dosagens superiores relatadas na literatura, reforçam a necessidade de manter a exposição aos HBG dentro dos níveis recomendados.



Palavras-chave: Glifosato, consumo hídrico, massa corporal.

AGRADECIMENTOS

CNPq, Processos 407329/2016-1 444286/2024-1, 403136/2024-5, 405546/2023-8, 307926/2022-2 de TGH, CAPES, PIBIC e UNIJUÍ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTAS-FERREIRA, C.; DURÁN, R.; FARO, L. R. F. Toxic Effects of Glyphosate on the Nervous System: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 9, p. 4605, 21 abr. 2022.

BRASIL. Nota Técnica Nº 23/2018/SEI/CREAV/GEMAR/GGTOX/DIRE3/ANVISA. Processo nº 25351.056754/2013-17. Nota Técnica Preliminar sobre as conclusões da reavaliação do Glifosato com as respectivas recomendações e proposta de minuta de RDC a ser submetida à consulta pública. 2018.

FRANCO, G. A. et al. Enviromental endocrine disruptor risks in the central nervous system: Neurotoxic effects of PFOS and glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 109, p. 104496–104496, 2 jul. 2024.

PEILLEX, C.; PELLETIER, M. The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. *Journal of Immunotoxicology*, v. 17, n. 1, p. 163–174, 1 jan. 2020.

MANSERVISI, F. et al. The Ramazzini Institute 13-week pilot study glyphosate-based herbicides administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on development and endocrine system. *Environmental Health*, v. 18, n. 1, 12 mar. 2019.

OJIRO, R. et al. Comparison of the effect of glyphosate and glyphosate-based herbicide on hippocampal neurogenesis after developmental exposure in rats. *Toxicology*, p. 153369, nov. 2022.

LARSEN, K. et al. Effects of sub-lethal exposure of rats to the herbicide glyphosate in drinking water: Glutathione transferase enzyme activities, levels of reduced glutathione and lipid peroxidation in liver, kidneys and small intestine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 34, n. 3, p. 811–818, nov. 2012.

HILDEBRANDT, B. et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 43, n. 1, p. 33–56, 1 jul. 2002.

MARTÍNEZ, M.-A. et al. Use of human neuroblastoma SH-SY5Y cells to evaluate glyphosate-induced effects on oxidative stress, neuronal development and cell death signaling pathways. *Environment International*, v. 135, p. 105414, 1 fev. 2020.