

**Evento:** XXXIII Seminário de Iniciação Científica ▾**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO DE GLIFOSATO EM RATOS WISTAR MACHO:
AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA E RAÇÃO E VIABILIDADE CELULAR****Luis Felipe Pedrolo Hickmann², Laura Braun Eickhoff³, Samara Cristine Knebel⁴,
Laura Schleder Correa⁵, Thiago Gomes Heck⁶,**

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 Bolsista; estudante do curso Medicina; Bolsista do programa de fomento Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - PROBIC/PROBITI-FAPERGS

³ 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, laura.eickhoff@sou.unijui.edu.br

⁴ 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

⁵ 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

⁶ 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 princípio ativo de herbicidas mais utilizado no mundo, muito devido a sua alta eficiência na eliminação de plantas daninhas (ANVISA, 2021). Por mais que proporcione proteção às culturas agrícolas, pode trazer malefícios aos ecossistemas em que é aplicado e também, dano à saúde humana (Pérez- Lucas et al., 2018). O uso de glifosato para fins agrícolas leva a uma maior presença dele no ambiente (solo, água e ar) e nos alimentos, resultando potencialmente em uma exposição humana contínua. A exposição não ocupacional e ocupacional ao herbicida, pela população pode se dar pela ingestão de água e alimentos contaminados, e por meio da inalação e contato dérmico, respectivamente (FIT, 2022).

Considerando o crescente uso de herbicidas à base de glifosato (HBG), a ANVISA determinou a dose de 0,5 mg/kg de peso corporal (pc) por dia, por meio do consumo de água e alimentos, como Ingestão Diária Aceitável (IDA) do herbicida para humanos. Estudos vêm apontando os efeitos tóxicos deste herbicida, incluindo danos ao tecido nervoso, hepático e renal, e órgãos reprodutivos, todos desencadeados pelo desbalanço no estresse oxidativo. Estudos correlacionam o desenvolvimento de doenças crônicas com a exposição à longo prazo ao glifosato (Wang et al., 2022; Gunatilake et al., 2019). O potencial efeito cancerígeno



do glifosato ainda é muito debatido, contudo, até o momento, sendo classificado como não comprovadamente carcinogênico (ANVISA, 2021) ou como provável cancerígeno humano, sendo enquadrado no Grupo 2A (IARC, 2015). Ademais, uma revisão de Muñoz et al. (2020), descreve os efeitos do glifosato sobre o sistema endócrino e, a partir de uma diretriz (La Merrill et al., 2020), os pesquisadores concluíram que o herbicida satisfaz quase todos os pontos necessários para ser classificado como um desregulador endócrino.

A cultura primária de células é um modelo para estudar os efeitos à nível celular. Mais especificamente, o cultivo de linfócitos possui aplicação no estudo do sistema imunológico, uma vez que, por meio dele, pode-se estudar a produção de citocinas, estimulação antigênica e a própria função imunológica (Schmidt et al., 2022; Harper et al., 2024). Nesse viés, um estudo conduzido por Gui et al. (2012) mostrou que a exposição ao glifosato ocasionou inibição da viabilidade das células e indução de apoptose via autofagia. Além disso, o desafio térmico entra nesse cenário como uma forma de avaliar a resposta celular dos linfócitos, representando a análise da capacidade do sistema imune (Abreu et al., 2025).

O objetivo deste estudo é avaliar se a exposição ao herbicida à base de glifosato (HBG) acarreta em alterações no consumo de água e ração de ratos Wistar jovens machos, e se altera a viabilidade celular de linfócitos em cultura primária. (ODS 3).

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo pré-clínico, experimental em modelo animal *in vivo* e prospectivo. Foram utilizados 12 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus albinus*), mantidos no biotério da UNIJUÍ sob condições padrão. CEUA no nº 028/24.

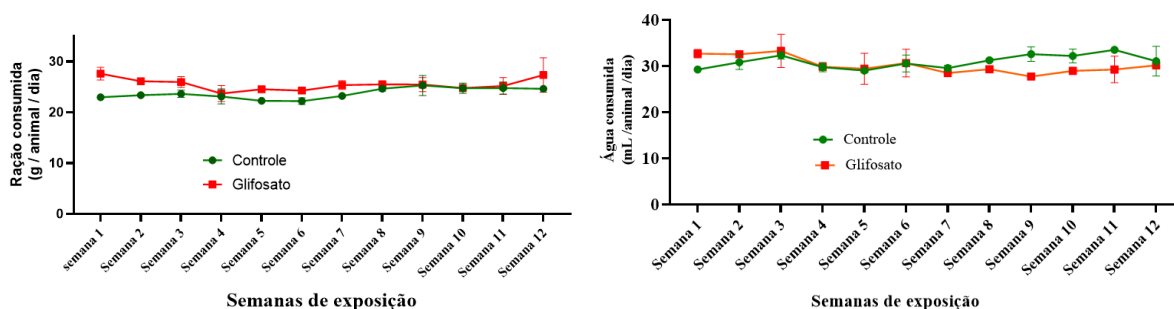
Os animais foram divididos em 2 grupos experimentais por 12 semanas: Controle (n=6): ratos que receberam água; Glifosato (n=6): ratos que foram expostos ao glifosato na água (representando o consumo médio diário de 0,5 mg/kg de massa corporal, na dose diária aceitável (IDA) recomendada pela ANVISA, ajustada semanalmente,. Foi registrado ao longo do estudo o consumo hídrico e de alimento (ração). Após a coleta do tecido, os linfonodos foram processados em uma cabine de biossegurança. A viabilidade celular foi realizada antes e após a terapia de choque térmico, via coloração por Trypan Blue e contagem na câmara de Neubauer. A análise estatística programa estatístico GraphPad Prism 8.0 por



análises de associação e de correlação de Pearson, teste t, ANOVA de duas vias e pós teste . O nível de significância será considerado como $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 1. Consumo de ração e água pelos animais ao longo de 12 semanas de exposição ao glifosato



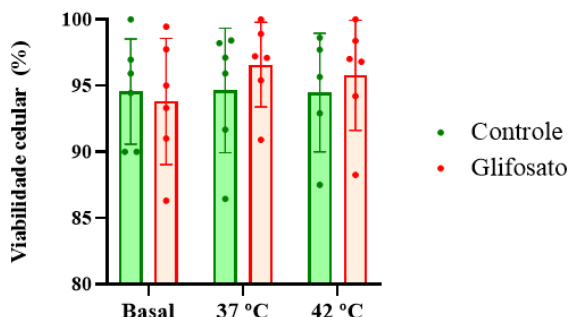
Legenda: A) consumo de ração Média±DP do grupo controle=23,71±1,04. Média±DP do grupo glifosato = 25,46±1,15.($P = 0,0008$). B) consumo de água. ($P=0,2369$). Média±DP do grupo controle=30,99 ±1,44. Média±DP do grupo glifosato =30.19±1,77. Anova de duas vias.

Na quinta semana de exposição, o grupo glifosato consumiu mais ração quando comparado ao grupo controle (Figura 1a). Logo, o glifosato, uma vez que apresenta potencial para neurotoxicidade, pode ter afetado áreas do cérebro como hipotálamo, o centro regulador dos estímulos orexígenos e anorexígenos, influenciando a ingestão de ração pelo animal, acarretando em maior consumo de ração (Díaz et al., 2022;Paulina et al., 2016). No entanto, essa diferença em uma única semana não permite dizer se foi de fato um efeito do glifosato.

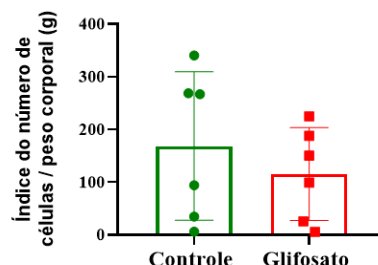
A dose utilizada de glifosato, a qual foi formulada seguindo a IDA de 0,5 mg/kg de peso corporal, não foi capaz de alterar a taxa de consumo de água dos animais do grupo glifosato (figura 1b). Similar a um estudo realizado por Díaz et al.(2022), utilizando métodos similares e expondo os animais à glifosato, ao metabólito AMPA e à formulação comercial Roundup®, não observou diferença no consumo hídrico.

Figura 2. Viabilidade da cultura primária de linfócitos e índice de extração de células.

Viabilidade da cultura primária de linfócitos (%)



Índice do número de células por peso corporal (g) do animal



Legenda: a) viabilidade: Análise estatística realizada a partir de teste t não pareado e Anova de duas vias. ($P = 0,7197$). B) Índice de extração: Análise do índice do número de células por peso corporal (g) do animal. Análise estatística realizada a partir de teste t não pareado. ($P = 0,453$).

A viabilidade da cultura primária de linfócitos dos grupos controle e glifosato não difere quando comparados nos tempos basal (imediatamente após a extração), ou após a cultura a 37° C ou 42° C. Ambos os grupos permaneceram com viabilidade acima de 90% após extração e choque térmico de 2 horas (figura 2a). A razão entre o número de células obtidas na contagem da viabilidade celular e o peso corporal do animal não difere. Uma revisão realizada por Lee e Choi (2020), aponta que a exposição pode causar alterações no funcionamento do sistema imunológico via imunotoxicidade pela sua interferência em processos como proliferação, diferenciação e sobrevivência.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do estudo sugerem que a exposição ao glifosato na dose IDA do herbicida para humanos pode fomentar o consumo de alimentos. Esses resultados corroboram com a necessidade de controlar a exposição ao HBG, visto os efeitos danosos já relatados na literatura.

Palavras-chave: Glifosato. Herbicidas. Cultura Primária de Células. Linfócitos.

AGRADECIMENTOS

CAPES, FAPERGS, UNIJUÍ, Financiamento: CNPq, #444286/2024-1, #403136/2024-5, #405546/2023-8, Financiamento: CNPq, #407329/2016-1, #307926/2022-2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica Glifosato. 2021.

Lucas, G.P et al. Environmental Risk of Groundwater Pollution by Pesticide Leaching through the Soil Profile. Pesticides. Use and Misuse and Their Impact in the Environment. IntechOpen, 2018.

CETESB. Glifosato. Ficha de informação toxicológica (FIT). Divisão de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental. São Paulo, 2022

Wang, Xiaojing et al. Oxidative Stress and Metabolism: A Mechanistic Insight for Glyphosate Toxicology. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. Vol. 62:617-639, 2022.

Gunatilake S.; Seneff S.; Orlando L. Glyphosate's Synergistic Toxicity in Combination with Other Factors as a Cause of Chronic Kidney Disease of Unknown Origin. Int J Environmental Research and Public Health. 16(15):2734. Jul 31. 2019.

International Agency for Research on Cancer (IARC). Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. Monographs Volume 112. 20 Mar. 2015.

Muñoz J.P.; Bleak, T.C.; Calaf GM. Glyphosate and the key characteristics of an endocrine disruptor: A review. Chemosphere. Volume 270. Maio de 2021.

La Merrill, M.A. et al. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. Nature Reviews Endocrinology. 16(1). Janeiro de 2020.

Schmidt, R. et al. CRISPR activation and interference screens decode stimulation responses in primary human T cells. Science, Immunology. Volume 375, Issue 6580. 4 Fev. 2022.

Harper, J. R. Primary Cell Culture as a Model System for Evolutionary Molecular Physiology. International Journal of Molecular Sciences. 19;25(14):7905. 19 Julho. 2024

Gui, Y. et al. Glyphosate induced cell death through apoptotic and autophagic mechanisms. Neurotoxicology and Teratology. Volume 34, Issue 3, Pages 344-349. Junho de 2012.

Abreu M.M; Chocron A.F; Smadja D.M; From cold to hot: mechanisms of hyperthermia in modulating tumor immunology for enhanced immunotherapy. Front Immunol. 28;16:1487296. Fevereiro 2025.

Díaz, D. E. Glyphosate, AMPA and glyphosate-based herbicide exposure leads to GFAP, PCNA and caspase-3 increased immunoreactive area on male offspring rat hypothalamus. Eur J Histochem.;66(4):3428, 2022.

Paulina, G. et al. Models for estimating feed intake in small ruminants. Brazilian Journal of Animal Science. 42 (9), 2013.

Lee, G; Choi, K. Adverse effects of pesticides on the functions of immune system. Comparative Biochemistry and Physiology. Seção C. Volume 235. Setembro de 2020.