



Evento: XXXIV Seminário de Iniciação Científica

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO IN VITRO AO HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM LINFÓCITOS DE RATOS WISTAR ¹

**Laura Braun Eickhoff², Fabiele Carloto Spanhol³, Luis Felipe Pedrolo Hickmann⁴, Luã
Urrutigaray⁵, Alessa Schwede Walker⁶, Samara Cristine Knebel⁷, Laura Schleder
Correa ⁸, Thiago Gomes Heck⁹**

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

²GPeF, Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - PIBIC/UNIJUI, Curso de Medicina, laura.eickhoff@sou.unijui.edu.br

³GPeF, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, Mestranda do projeto, fabiele.spanhol@sou.unijui.edu.br

⁴GPeF, Bolsista PIBIC-FAPERGS, Curso de Medicina, luis.hickmann@sou.unijui.edu.br

⁵GPeF, Bolsista PIBIC-CNPq, Curso de Psicologia, lua.urrutigaray@sou.unijui.edu.br

⁶GPeF, alessa.schwede@unijui.edu.br

⁷GPeF, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, Mestranda do projeto, samara.knebel@sou.unijui.edu.br

⁸GPeF, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, Doutoranda do projeto, laura.schleder@sou.unijui.edu.br

⁹GPeF, Docente no Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde e Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em (In)Atividade Física e Saúde (INCT-CNPq), thiago.heck@unijui.edu.br

INTRODUÇÃO

O glifosato (GLY) é um composto organofosforado com propriedades herbicidas descoberto em 1970 (Peillex, Pelletier, 2020). É atualmente o herbicida mais utilizado globalmente, e seu uso continua aumentando com o surgimento de resistência em plantas daninhas (Benbrook, 2016). Nas últimas décadas, diferentes estudos investigaram os potenciais efeitos do GLY em modelos celulares *in vitro*. Alguns estudos determinaram que o GLY pode induzir genotoxicidade em diferentes células e linfócitos do sangue periférico humano (Lioi, *et al.* 1998) e em células da medula óssea de camundongos (Prasad *et al.* 2009). Outros estudos concluíram que não há efeito genotóxico do GLY em ratos (Li, Long, 1988) e humanos (Manas, *et al.* 2009). Assim, existe debate acerca da genotoxicidade e do potencial carcinogênico do GLY, e ainda mais desconhecimento sobre seu metabolismo no sangue (Alvarez-Moya *et al.*, 2022).



Dito isso, o estresse oxidativo (EO) é um dos mecanismos de toxicidade dos herbicidas, o qual pode resultar na ativação de diversos mecanismos de defesa contra danos oxidativos (Endirlik *et al.*, 2022). Estudos mostram que o GLY pode promover danos diretos a macromoléculas, como proteínas e DNA, por meio da elevação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Wang *et al.*, 2022), e as enzimas antioxidantes formam a primeira linha de defesa contra EROs (Younus *et al.*, 2018).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se a exposição ao herbicida à base de glifosato (HBG) *in vitro*, provoca efeitos citotóxicos e altera a atividade de enzimas antioxidantes em linfócitos de ratos Wistar. O estudo alinha-se 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, 2026).

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental *in vitro*, laboratorial, comparativo e controlado em culturas de células primárias obtidas de animais de laboratório. Foram utilizados 7 ratos Wistar (três fêmeas e quatro machos), de 10-12 meses, provenientes do biotério da UNIJUÍ, mantidos em caixas contendo maravalha, em ambiente com temperatura controlada (24 ± 2 °C) e ciclos claro/escuro de 12 horas. Todos os grupos experimentais receberam ração padronizada para animais de laboratório e água potável *ad libitum* até o momento da coleta dos linfonodos. Os animais foram eutanasiados com sobredose anestésica (quetamina e xilazina) para a retirada dos linfonodos mesentéricos (CEUA-UNIJUÍ, protocolo nº 009/25)

As células (linfócitos dos linfonodos) de cada animal foram suspensas em meio RPMI 1640 com soro fetal bovino, glicose e antibióticos, e foram divididas em dois grupos em placas de cultura: Controle e Glifosato (500 μ M - concentração de GLY como ingrediente ativo presente na formulação comercial de Roundup Original Mais 48% i.a.) e incubadas a 37 °C com 5% de CO₂ por 6 horas. A viabilidade celular foi estimada com corante azul tripan e contagem em câmara de Neubauer (Peres, Curi, 2005). A atividade da enzima SOD foi determinada pela inibição da auto-oxidação do pirogalol, com leitura a 420 nm (Younus *et al.*, 2018). A atividade da enzima CAT é determinada pela decomposição do peróxido de hidrogênio, com leitura no espectrofotômetro a 240 nm (Nelson, Cox, 2005). Os dados

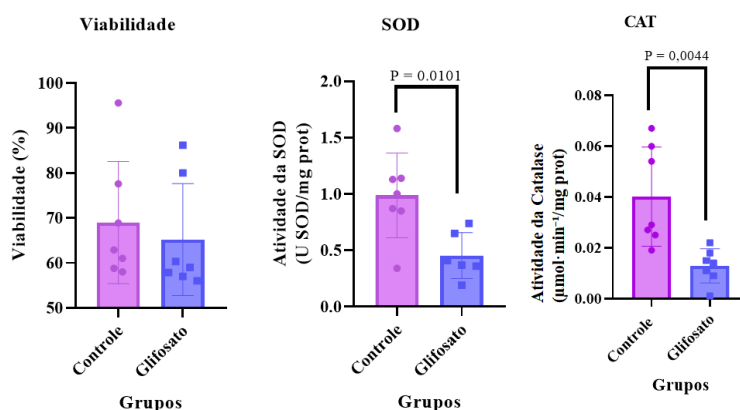


obtidos foram avaliados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e avaliados pelo teste T de Student ou Mann-Whitney, considerando a significância estatística se $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição *in vitro* ao glifosato não alterou a viabilidade celular dos linfócitos ($C = 68,97\% \pm 13,59$, $G = 65,20\% \pm 12,43$, $p = 0,317$). Esses achados sugerem que, se forem observadas alterações em outras variáveis, não estão associadas à perda de viabilidade celular, mas sim a modificações funcionais do metabolismo celular. Houve diminuição na atividade da SOD ($C = 0,9871 \pm 0,3757$, $G = 0,4533 \pm 0,2038$, $p = 0,0101$) e da CAT ($C = 0,0401 \pm 0,0195$, $G = 0,0128 \pm 0,0067$, $p = 0,0044$) no grupo de células expostas ao GLY, sugerindo um comprometimento do sistema antioxidante celular (Figura 1).

Figura 1. Representação dos resultados de viabilidade celular (%) e defesas antioxidantes de linfócitos expostos ao glifosato. Viabilidade: Mann-Whitney test. ($P = 0,3176$). $n = 7$ /grupo. Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD), (U SOD/mg prot). $P = 0,0101$. Unpaired test t. $n = 7$ /grupo. Atividade da enzima Catalase (CAT), ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}/\text{mg prot}$). $P = 0,0044$. Unpaired test t. Controle, $n = 7$ /grupo.



Fonte: Autores.

Makame *et al.* (2023) expôs células mononucleares de sangue humano a diferentes concentrações de glifosato e HBG ($0,1 \mu\text{M}$ a 10 mM) por um período de 4 e 20 horas, e obteve que o GLY isoladamente não afetou a atividade da enzima SOD. No entanto, quando tratadas com HBG, houve uma redução da atividade da SOD em concentrações acima de $100 \mu\text{M}$, indicando um comprometimento da defesa antioxidante (Makame *et al.*, 2023). Mesnage *et al.* (2013) demonstrou que o POEA (Polioxietilenoamina, surfactante presente no



Roundup) rompe a integridade da membrana em células humanas mesmo em concentrações relativamente baixas, promovendo necrose celular e disfunção endócrina (Mesnage *et al.*, 2013).

O EO é reconhecido por sua capacidade de desencadear uma resposta adaptativa em células e organismos quando encontrado em níveis moderados de estresse e baixas doses. Nessas condições, os organismos vivos podem ativar mecanismos de proteção para neutralizar os efeitos do EO e manter a homeostase celular (Makame *et al.*, 2023). As enzimas são responsáveis por manter um equilíbrio dinâmico entre a produção e a eliminação de oxidantes biológicos no organismo, prevenindo os efeitos tóxicos dos radicais livres (Zheng *et al.*, 2023). Assim, estimulações moderadas podem ser benéficas, mas doses elevadas podem causar efeitos inibitórios ou tóxicos (Makame *et al.*, 2023).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições experimentais avaliadas, a exposição *in vitro* ao HBG não alterou a viabilidade dos linfócitos, porém promoveu redução da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, indicando possível comprometimento da resposta antioxidante celular.

Palavras-chave: Glifosato. Enzimas antioxidantes. Sistema imunológico. Linfócitos.

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

Peillex C, Pelletier M. The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. *J Immunotoxicol.* 2020;17(1):163-174. doi:10.1080/1547691X.2020.1804492

Benbrook, C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ Sci Eur* 28, 3 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>



- Lioi MB, Scarfi MR, Santoro A, et al. Danos citogenéticos e indução de estado pró-oxidante em linfócitos humanos expostos in vitro a glifosato, vinclozolina, atrazina e DPX-E9636. *Environ Mol Mutagen* . 1998;32(1):39-46.
- Prasad S, Srivastava S, Singh M, Shukla Y. Efeitos clastogênicos do glifosato em células da medula óssea de camundongos albinos suíços. *J Toxicol* . 2009;2009:308985.
- Li AP, Long TJ. Uma avaliação do potencial genotóxico do glifosato. *Fund Appl Toxicol* . 1988;10(3):537-546
- Mañas F, Peralta L, Raviolo J, et al. Genotoxicidade do glifosato avaliada pelo ensaio do cometa e testes citogenéticos. *Environ Toxicol Pharmacol* . 2009;28(1):37-41.
- Alvarez-Moya, C. et al. Antigenotoxic Effect of Ascorbic Acid and Resveratrol in Erythrocytes of *Ambystoma mexicanum*, *Oreochromis niloticus* and Human Lymphocytes Exposed to Glyphosate. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2022, 44, 2230–2242. <https://doi.org/10.3390/cimb44050151>.
- Endirlik, B.U. et al., Investigation of the toxicity of a glyphosate-based herbicide in a human liver cell line: Assessing the involvement of Nrf2 pathway and protective effects of vitamin E and α -lipoic acid, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, doi: 10.1016/j.etap.2022.103999. Epub 2022 Oct 14.
- Wang X, Lu Q, Guo J, et al. Oxidative Stress and Metabolism: A Mechanistic Insight for Glyphosate Toxicology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2022;62:617-639. doi:10.1146/annurev-pharmtox-020821-111552
- Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2018 May-Jun;12(3):88-93. PMID: 29896077; PMCID: PMC5969776. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5969776/>.
- NAÇÕES UNIDAS. *The Sustainable Development Goals*. United Nations Sustainable Development, [s. d.]. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/development-goals/>
- Peres, Carmen Maldonado. CURI, Rui. Como cultivar células. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- Nelson, David L., COX, Michael M., Lehninger Principles of Biochemistry, 4th ed., W. H. Freeman, 2005.
- Makame, KR, et al. Oxidative Stress and Cytotoxicity Induced by Co-Formulants of Glyphosate-Based Herbicides in Human Mononuclear White Blood Cells. *Toxics* 2023 , 11 , 976. <https://doi.org/10.3390/toxics11120976>
- Mesnager R, Bernay B, Seralini GE. Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology*. 2013;313(2-3):122-128. doi:10.1016/j.tox.2012.09.006
- Zheng, M. et al. The Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase in Medicine, Food, and Cosmetics. *Antioxidants*, 2023, 12, 1675. <https://doi.org/10.3390/antiox12091675>