



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

NICOLE KEMY IDA MIYA

**EFEITOS DA NANOPARTÍCULA DE FERRIHIDRITA SOBRE
O ESTRESSE OXIDATIVO PROMOVIDO POR HERBICIDAS
EM RATOS WISTAR**

Londrina
2024

NICOLE KEMY IDA MIYA

**EFEITOS DA NANOPARTÍCULA DE FERRIHIDRITA SOBRE
O ESTRESSE OXIDATIVO PROMOVIDO POR HERBICIDAS
EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Cássia Thaïs B. V. Zaia.

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

N642e Miya, Nicole Kemy Ida Miya.
EFEITOS DA NANOPARTÍCULA DE FERRIHIDRITA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO PROMOVIDO POR HERBICIDAS EM RATOS WISTAR / Nicole Kemy Ida Miya Miya. - Londrina, 2024.
48 f.

Orientador: Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia.
Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Roundup - Tese. 2. Atrazina - Tese. 3. Glifosato - Tese. 4. Estresse oxidativo - Tese. I. Bussamra Vieira Zaia, Cássia Thaís . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Título.

CDU 612

NICOLE KEMY IDA MIYA

EFEITOS DA NANOPARTÍCULA DE FERRIHIDRITA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO PROMOVIDO POR HERBICIDAS EM RATOS WISTAR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profa. Dra. Cássia Thaïs Bussamra
Vieira Zaia
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fábio Goulart de Andrade
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Sergio Marques Borghi
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Suplente: Prof. Dra. Gisele Lopes Bertolini
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Suplente: Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verri
Junior
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 06 de março de 2024.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Cássia Thaïs Bussamra Vieira Zaia, por todo ensinamento e conhecimento compartilhado, pelas correções, e toda a dedicação a mim e a este trabalho. Obrigada pela confiança, paciência, carinho e disponibilidade de sempre.

Ao Prof. Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia, pelo apoio, auxílio, colaboração com a síntese das nanopartículas de ferrihidrita e todo o auxílio neste trabalho. A todos os membros do Laboratório de Química Prebiótica (LQP), especialmente ao Giulio.

À Profa. Cláudia Bueno dos Reis Martinez por ter cedido a estrutura do Laboratório de Ecofisiologia Animal (LEFA) e aos alunos que auxiliaram nas análises desenvolvidas nesse projeto, à Dra. Caroline Santos, pela paciência e competência em suas explicações desde o início, e ao Dr. Thiago Alvim, por ter acompanhado e contribuído nas últimas análises e a disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

Aos professores, Dr. Fábio Goulart de Andrade, Dr. Sergio Marques Borghi, Dra. Gisele Lopes Bertolini e Dr. Waldiceu Aparecido Verri Junior por terem aceitado o convite para compor a banca examinadora e contribuir com o enriquecimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Fisiologia Neuroendócrina e Metabolismo (LaFiNeM), a todos que já fizeram ou fazem parte do LaFiNeM: Ana, Andressa, Danielly, Deborah, Camila, Cleusa, Fabiano, Lara, Larissa, Lucas, Maria Heloisa, Polyana, Rhauany, Thaís. Gostaria de agradecer especialmente ao Fabiano e ao Lucas pelo imenso auxílio e apoio na execução deste trabalho.

À minha família. Ao meu pai Humberto Yochiaki Miya, pela provisão em minha vida. À minha mãe, Claudia Ida Miya, minha melhor amiga e intercessora. À minha irmã Nathalia. Eu amo vocês. À minha batchan, Deiko Miya, professora aposentada, pelo incentivo e paixão pelo conhecimento mesmo em seus 90 anos, com certeza você foi um grande incentivo para que eu pudesse realizar o Mestrado.

À Deus, que arquitetou e permitiu tudo isso, por ter me proporcionado saúde física, cognitiva e intelectual durante todo o processo do Mestrado. Por sempre direcionar o caminho rumo ao meu propósito e ter me sustentando do início ao fim (Salmos 66:16-20; Isaías 41:10-16).

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas (CIF), ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (PGCIF), e a todos os professores do PGCIF. À Universidade Estadual de Londrina (UEL).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa.

Ao PRONEX - CNPq - Fundação Araucária (convênio 250/2013, protocolo-24732) pelo auxílio financeiro.

A ciência é, portanto, uma perversão de si
mesma, a menos que tenha como fim
último, melhorar a humanidade.

Nikola Tesla

MIYA, Nicole Kemy Ida. **Efeitos da nanopartícula de ferrihidrita sobre o estresse oxidativo promovido por herbicidas em ratos Wistar**. 2024. 48 p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas, Londrina, 2024.

RESUMO

O uso excessivo de herbicidas pode levar ao estresse oxidativo e tem efeitos prejudiciais à saúde humana. A ferrihidrita, uma nanopartícula de óxido de ferro, mostra-se promissora contra os efeitos tóxicos dos herbicidas, devido à sua alta relação superfície/volume e excelente capacidade de adsorção. Este estudo avaliou se a ferrihidrita previne o estresse oxidativo induzido por herbicidas, por meio de parâmetros relacionados à defesa antioxidante e ao dano oxidativo. Um total de 64 ratos Wistar adultos com peso entre 260-290 g foram divididos em 8 grupos, com 8 ratos em cada grupo. Durante quatro dias consecutivos, os ratos receberam dose diária de 1000 mg/kg de peso corporal de diferentes substâncias: ferrihidrita (F), glifosato (G), Roundup® (R), atrazina (A), ferrihidrita associado ao glifosato (FG), Roundup® (FR) ou atrazina (FA) via gavagem. O grupo controle (C) recebeu água. Após 24 horas a última administração, os ratos foram eutanasiados por decapitação e o fígado, rim e cérebro foram removidos para análise. Os parâmetros avaliados incluíram glutathiona-reduzida (GSH, $\mu\text{g.g prot}^{-1}$), malondialdeído (MDA, pmol.g prot^{-1}), glutathiona-S-transferase (GST, $\text{nmol CDNB conjugado.min}^{-1}\text{g prot}^{-1}$), catalase (CAT, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{.min}^{-1}\text{g prot}^{-1}$), proteína carbonil (PCO, $\text{nmol carbonil.g prot}^{-1}$) e acetilcolinesterase (AChE, $\text{nmol DTNB.min}^{-1}\text{g prot}^{-1}$). A ferrihidrita isolada não causou alterações no cérebro e rins; porém promoveu aumento nas concentrações de MDA no fígado que indica peroxidação lipídica neste tecido. O glifosato levou ao aumento da atividade de GST no fígado, a associação com ferrihidrita diminuiu esta atividade em relação ao glifosato isolado, porém esta associação (FG) apresentou aumento nas concentrações de MDA em relação ao controle e ao glifosato; além disso, não houve resultados consistentes com o esperado nos rins, no grupo FG as concentrações de GSH diminuíram em relação aos grupos controle e glifosato. O Roundup® aumentou concentrações de MDA no fígado e no cérebro, em relação ao controle, e a ferrihidrita associada ao Roundup® evitou estes aumentos; além disso, a atividade da CAT diminuiu com administração do Roundup®, no entanto, houve impedimento desta diminuição quando associado com a ferrihidrita. A atrazina aumentou a concentração de GSH no fígado em relação ao controle e o grupo FA impediu este aumento. Concluindo, a ferrihidrita isolada induziu LPO no fígado, mas não nos rins e cérebro. Quando associada ao glifosato, não mostrou resultados consistentes. Porém, quando associada com o Roundup®, foi capaz de impedir o estresse oxidativo, no fígado e no cérebro; por fim, a nanopartícula em associação com a atrazina também pode indicar resultados consistentes em evitar o estresse oxidativo promovido pelo herbicida.

Palavras-chave: glifosato; Roundup®; atrazina; antioxidante; lipoperoxidação.

MIYA, Nicole Kemy Ida. **Effects of ferrihydrite nanoparticles on oxidative stress promoted by herbicides in Wistar rats.** 2024. 48 p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas, Londrina, 2024.

ABSTRACT

Excessive use of herbicides can lead to oxidative stress and has harmful effects on human health. Ferrihydrite, an iron oxide nanoparticle, shows promise against the toxic effects of herbicides, due to its high surface/volume ratio and excellent adsorption capacity. This study evaluated whether ferrihydrite prevents oxidative stress induced by herbicides, through parameters related to antioxidant defense and oxidative damage. A total of 64 adult Wistar rats weighing between 260-290 g were divided into 8 groups, with 8 rats in each group. For four consecutive days, the rats received a daily dose of 1000 mg/kg of body weight of different substances: ferrihydrite (F), glyphosate (G), Roundup® (R), atrazine (A), ferrihydrite associated with glyphosate (FG), Roundup® (FR) or atrazine (FA) via gavage. The control group (C) received water. 24 hours after the last administration, the rats were euthanized by decapitation and the liver, kidney and brain were removed for analysis. Parameters evaluated included reduced-glutathione (GSH, $\mu\text{g.g prot}^{-1}$), malondialdehyde (MDA, pmol.g prot^{-1}), glutathione-S-transferase (GST, $\text{nmol CDB conjugated.min}^{-1}\text{g prot}^{-1}$), catalase (CAT, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{.min}^{-1}\text{g prot}^{-1}$), protein carbonyl (PCO, $\text{nmol carbonyl.g prot}^{-1}$) and acetylcholinesterase (AChE, $\text{nmol DTNB.min}^{-1}\text{g prot}^{-1}$). Isolated ferrihydrite did not cause changes in the brain and kidneys; however, it promoted an increase in MDA concentrations in the liver, which indicates lipid peroxidation in this tissue. Glyphosate led to an increase in GST activity in the liver, the association with ferrihydrite decreased this activity in relation to glyphosate alone, however this association (FG) showed an increase in MDA concentrations in relation to the control and glyphosate; Furthermore, there were no results consistent with expectations in the kidneys; in the FG group, GSH concentrations decreased in relation to the control and glyphosate groups. Roundup® increased MDA concentrations in the liver and brain, in relation to the control, and the ferrihydrite associated with Roundup® prevented these increases; Furthermore, CAT activity decreased with the administration of Roundup®, however, this decrease was prevented when associated with ferrihydrite. Atrazine increased the concentration of GSH in the liver in relation to the control and the FA group prevented this increase. In conclusion, ferrihydrite alone induced LPO in the liver, but not in the kidneys and brain. When associated with glyphosate, it did not show consistent results. However, when associated with Roundup®, it was able to prevent oxidative stress in the liver and brain; Finally, the nanoparticle in association with atrazine can also indicate consistent results in avoiding oxidative stress promoted by the herbicide.

Key-words: glyphosate; Roundup®; atrazine; antioxidant; lipoperoxidation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Valores no fígado de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona-S-transferase (GST), malondialdeído (MDA), catalase (CAT), proteína carbonil (PCO) de ratos que receberam, via gavagem, dose única diária (1000 mg/kg de peso corpóreo), por 4 dias, de água de torneira, sendo o grupo controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F), glifosato (G), Roundup® (R), atrazina (A), ou a combinação da nanopartícula com os herbicidas 27
- Figura 2 -** Valores no rim de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona-S-transferase (GST), malondialdeído (MDA), e catalase (CAT) de ratos que receberam, via gavagem, dose única diária (1000 mg/kg de peso corpóreo), por 4 dias, de água de torneira, sendo o grupo controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F), glifosato (G), Roundup® (R), atrazina (A), ou a combinação da nanopartícula com os herbicidas..... 28
- Figura 3 -** Valores no cérebro de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona-S-transferase (GST), malondialdeído (MDA), catalase (CAT), e acetilcolinesterase (AChE) de ratos que receberam, via gavagem, dose única diária (1000 mg/kg de peso corpóreo), por 4 dias, de água de torneira, sendo o grupo controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F), glifosato (G), Roundup® (R), atrazina (A), ou a combinação da nanopartícula com os herbicidas..... 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Compilação dos resultados obtidos em tecidos de ratos Wistar: glutathiona-reduzida (GSH, $\mu\text{g.g prot-1}$), malondialdeído (MDA, pmol.g prot-1), glutathiona-S-transferase (GST, $\text{nmol CDNB conjugado.min-1.g prot-1}$), catalase (CAT, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{.min-1.g prot-1}$), proteína carbonil (PCO, $\text{nmol carbonil.g prot-1}$) e acetilcolinesterase (AChE, $\text{nmol DTNB.min-1.g prot-1}$).....	30
-------------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	atrazina
AChE	acetilcolinesterase
CAT	catalase
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CIF	Departamento de Ciências Fisiológicas
DNPH	2,4-dinitrofenil-hidrazina
EPSPS	5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintase
ERO	espécies reativas de oxigênio
F	ferrihidrita
G	glifosato
GPx	glutathiona-peroxidase
GR	glutathiona-redutase
GSH	glutathiona-reduzida
GST	glutathiona-S-transferase
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
LaFiNeM	Laboratório de Fisiologia Neuroendócrina e Metabolismo
LPO	Lipoperoxidação
MDA	malondialdeído
PCO	carbonilação proteica
POEA	polioxietilenoamina
R	Roundup®
SOD	superóxido dismutase
UEL	Universidade Estadual de Londrina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo geral	20
2.2	Objetivos específicos	20
3	METODOLOGIA	21
3.1	Animais	21
3.2	Nanopartícula	21
3.3	Herbicidas	21
3.4	Protocolo experimental	22
3.5	Eutanásia	23
3.6	Análises bioquímicas do estresse oxidativo	23
3.6.1	Antioxidante não enzimático	23
3.6.2	Enzimas antioxidantes	23
3.6.3	Peroxidação lipídica (LPO).....	23
3.6.4	Carbonilação proteica (PCO)	24
3.7	Acetilcolinesterase (AChE)	24
3.8	Análise estatística	24
4	RESULTADOS	25
4.1	Efeito da nanopartícula de ferrihidrita.....	25
4.2	Efeito do glifosato e da associação de ferrihidrita com glifosato	25
4.3	Efeito do Roundup® e da associação de ferrihidrita com Roundup®.....	25
4.4	Efeito da atrazina e da associação de ferrihidrita com atrazina.....	25
5	DISCUSSÃO	31

6	CONCLUSÃO	36
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
	ANEXO 1 - Aprovação da CEUA	48

1 INTRODUÇÃO

Praguicidas são substâncias sintetizadas que apresentam atividade tóxica servindo para matar ou repelir pragas e são categorizados de acordo com o tipo de organismo que visam combater. Por exemplo, os inseticidas são desenvolvidos para controlar insetos, os fungicidas são criados para combater fungo, e os herbicidas têm habilidade de restringir o crescimento ou até mesmo eliminar certas espécies de plantas invasoras. Esse efeito ocorre devido à ação do ingrediente ativo do herbicida em locais de ação específicos, que, na maioria das vezes, são enzimas cruciais para a manutenção da homeostase e do funcionamento normal da planta invasora (ROMAN et al., 2007). O Brasil é o único que adotou uma nomenclatura própria para os praguicidas: agrotóxico (IBAMA, 2021).

Os agrotóxicos são produtos químicos, utilizados para controlar as doenças transmitidas por vetores e regular o crescimento da vegetação (BRASIL, 2002). Segundo dados recentes disponibilizados pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, o Brasil é considerado um dos maiores exportadores de commodities do mundo (FAOSTAT, 2020), por isso, para proteger as lavouras e permitir aumento significativo da produção, pode acontecer uma utilização irregular e excessiva de agrotóxicos, principalmente em países emergentes (GONÇALVES et al., 2012), que aumenta o risco de poluição do meio ambiente e o risco de danos à saúde dos seres vivos (SANNINO et al., 2008).

Dados fornecidos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) mostram que, no Brasil, a venda total de agrotóxicos de produtos formulados atingiu 720,87 mil toneladas em 2021, que representa um aumento de 5,03% em relação ao ano de 2020, com 686,35 mil toneladas (IBAMA, 2021), e subiu para 800 mil toneladas em 2022 (IBAMA, 2023). No Brasil, a classe de agrotóxicos mais prevalente e amplamente utilizada são os herbicidas, representando cerca de 60,35% do total de agrotóxicos comercializados (IBAMA, 2021). Em 2022, os ingredientes ativos mais comercializados no país incluem o glifosato, 2,4-D, mancozebe, atrazina (IBAMA, 2023), sendo que Mato Grosso, São Paulo e Paraná se destacam como os estados com as maiores quantidades de vendas no país (IBAMA, 2023).

O glifosato, também conhecido como N-fosfonometil-glicina ($C_3H_8NO_5P$), é um herbicida de amplo espectro com ação sistêmica, frequentemente aplicado após o surgimento de plantas daninhas em culturas anuais e perenes. A sua principal finalidade reside no controle e na erradicação de plantas indesejáveis na agricultura (DARUICH et al.,

2001; BEURET et al., 2005; ÇAGLAR; KOLANKAYA, 2008). O glifosato figura como um dos xenobióticos mais amplamente empregados na agricultura moderna (PEIXOTO, 2005). Esse uso generalizado se deve, em grande parte, ao seu custo relativamente baixo e a sua notável eficácia (TAVARES et al., 2010). O valor do limite máximo permitido no Brasil na produção do café é 10 vezes maior do que é permitido na União Europeia (UE), na de cana-de-açúcar é 20 vezes maior, na de soja é 200 vezes maior. Além disso, o limite máximo permitido de glifosato na água potável no Brasil é de 500 µg/L, 5000 vezes maior do que o permitido na UE, que é de 0,1 µg/L (IBAMA, 2020; BOMBARDI, 2017).

O glifosato, uma vez aplicado, é rapidamente absorvido pela superfície das folhas (KIRKWOOD et al., 2000; PRATA; LAVORENTI, 2000) e atua inibindo a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) (SCHOÜNBRUNN et al., 2001; FUNKE et al., 2006; DUKE; POWLES, 2008). A EPSPS desempenha um papel fundamental na via do shikimato, que produz o 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato precursor dos aminoácidos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano (TZIN; GALILI, 2010; POLLEGIONI et al., 2011), bem como de vitaminas e lignina (BRAKE; EVENSON, 2004). Dessa forma, o glifosato causa a morte da planta pela insuficiência dos aminoácidos essenciais que são vitais para o crescimento e desenvolvimento das plantas.

O glifosato é formulado com adjuvantes, como o surfactante polioxietilenoamina (POEA), sendo que a composição mais conhecida é o Roundup® (VAN BRUGGEN et al., 2018). O POEA é adicionado à formulação com o propósito de aumentar a eficácia do herbicida (COX; SURGAN, 2006), por promover a difusão do glifosato pela cutícula da folha (HAEFS et al., 2002; LIU, 2004). É importante mencionar que alguns estudos sugerem que o POEA pode ter efeitos tóxicos, e chegou a ser considerado até três vezes mais tóxico do que o próprio glifosato (GIESY et al., 2000).

Desde meados da década de 1990, houve uma contínua expansão no uso do Roundup® na agricultura (REDDY, 2001), especialmente em culturas geneticamente modificadas para resistir ao glifosato (WILLIAMS et al., 2000). Essa ampla utilização tem suscitado preocupações sobre os potenciais efeitos adversos desses produtos químicos no meio ambiente, incluindo a possibilidade de toxicidade em situações de exposição intensa (WILLIAMS et al., 2000), o que representa riscos para a vida aquática (GIESY et al., 2000) e a saúde humana (FERON et al., 2002; LUSHCHAK et al., 2009).

Outro herbicida amplamente utilizado no Brasil é a atrazina, este herbicida foi proibido pela UE em 2004, porém ainda é utilizado no Brasil, sendo o terceiro herbicida mais comercializado (IBAMA, 2020; BOMBARDI, 2017). A atrazina inibe o fluxo de elétrons durante o processo de fotossíntese, prejudicando a produção de glicose. No entanto, a

71 simples interrupção da fotossíntese não é suficiente para causar a morte da planta. O fator
72 crítico é que essa interrupção no fluxo de elétrons leva à formação de espécies reativas de
73 oxigênio, as quais provocam a peroxidação dos lipídeos das membranas celulares. Esse
74 processo é o principal responsável pela morte das plantas (MARCHI; MARCHI;
75 GUIMARÃES, 2008).

76 O uso excessivo dos herbicidas pode afetar a saúde humana, devido às suas
77 ações sobre vias relacionadas à geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e radicais
78 livres (LUSHCHAK, 2011), que levam ao estresse oxidativo (TOWNSON, 1992). Em uma
79 condição fisiológica normal, ocorre um equilíbrio entre o sistema pró-oxidante, responsável
80 pela formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio, e o sistema de
81 defesa antioxidante (NIKINMAA, 2014; PERSSON et al., 2014). Quando esse equilíbrio é
82 perturbado em favor do sistema pró-oxidante, surge o quadro de estresse oxidativo
83 (NIKINMAA, 2014; PERSSON et al., 2014).

84 O quadro de estresse oxidativo acontece com aumento das ERO, com desequilíbrio
85 entre os antioxidantes e compostos oxidantes; sendo que os radicais livres possuem
86 átomos com um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWEL; WHITEMAN, 2004;
87 JAKUBCZYK et al., 2020), que possuem alto potencial de danos em todos os tipos de
88 moléculas biológicas; podem provocar danos nos lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos
89 nucleicos. Os danos oxidativos causados pelos radicais livres podem afetar os lipídios das
90 membranas, resultando no aumento da concentração de malondialdeído (MDA) (MAULIK
91 et al., 2013). Em proteínas, o dano oxidativo promove a oxidação dessas moléculas,
92 resultando na perda de grupos sulfidrilas e na modificação de aminoácidos, contribuindo,
93 em última análise, para a formação de proteínas carboniladas (PCO) e outros componentes
94 oxidados que estão associados ao desenvolvimento de várias doenças (PARVEZ, 2005).

95 Contudo, com o intuito de manter as concentrações de ERO em equilíbrio, o
96 organismo dispõe de sistemas de defesa antioxidante, esses sistemas são divididos em
97 antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, e têm a função de neutralizar as espécies
98 reativas. O sistema não-enzimático é constituído por grande variedade de substâncias
99 antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética, como por exemplo, a vitamina
100 E, a vitamina C e o betacaroteno, além de minerais como o selênio e o manganês (COSTA,
101 2005; BARBOSA et al., 2010). Essas moléculas cooperam em conjunto com as defesas
102 antioxidantes enzimáticas, que englobam enzimas como a superóxido dismutase (SOD), a
103 catalase (CAT), a glutathione-redutase (GR) e a glutathione-peroxidase (GPx) (LOPEZ-
104 ALARCÓN; DENICOLA, 2013; NIKINMAA, 2014; BURELLA, 2018), que previnem,
105 impedem e controlam a formação dos radicais livres e espécies não-radicaais, que ampliam

106 a ocorrência dos danos oxidativos e, de forma crônica, a várias doenças, tais como,
107 aterosclerose, diabetes, transtornos neurodegenerativos e câncer (BARBOSA et al., 2010).
108 Além disso, há a glutathione-S-transferase (GST), uma molécula de significativa importância
109 que faz parte de um grupo de enzimas detoxificantes de fase II, envolvidas na
110 biotransformação. A GST catalisa a ligação da GSH a metabólitos endógenos e exógenos,
111 facilitando sua excreção (PRABHU et al., 2004; HAYES et al., 2005).

112 Neste contexto, em que o estresse oxidativo está relacionado com a origem de
113 várias doenças crônicas e degenerativas (PHAM-HUY; PHAM-HUY, 2008), como doença
114 de Parkinson, Alzheimer, esclerose lateral amiotrófica, enfisema, doenças cardiovasculares
115 (MAULIK et al., 2013), doenças inflamatórias e neoplasias (GUTTERIDGE, 1993), o número
116 de estudos e publicações que investigam o papel dos marcadores do estresse oxidativo em
117 diversas doenças humanas tem crescido, tornando essas análises relevantes para
118 compreender a extensão e a natureza dos danos oxidativos (FRIJHOFF et al., 2015).
119 Portanto, a avaliação do estresse oxidativo é um método utilizado para detectar a presença
120 de toxicidade causada por substâncias.

121 Um outro indicador crucial para avaliar a toxicidade de substâncias é o processo
122 de metabolização da acetilcolina (LIONETTO et al., 2013). Este neurotransmissor
123 desempenha um papel fundamental no comportamento, com os sistemas colinérgicos do
124 prosencéfalo envolvidos em processos essenciais como atenção, memória, aprendizado e
125 regulação do ciclo sono-vigília (SARTER; BRUNO, 1997). Além disso, a acetilcolina
126 desempenha um papel importante nos mecanismos de atividade motora voluntária e
127 comportamento motor, sendo o principal neurotransmissor nas junções neuromusculares;
128 e é um neurotransmissor chave no sistema nervoso autônomo, em que controla funções
129 involuntárias, como a frequência cardíaca, respiração, digestão e regulação da temperatura
130 corporal (SERGUTINA; RAKHMANOVA, 2014). A acetilcolinesterase (AChE) é encontrada
131 nas fendas sinápticas, onde catalisam a degradação da acetilcolina. A atividade da AChE
132 pode ser afetada por herbicidas (NIKINMAA, 2014), neste contexto, leva a estimulação
133 excessiva dos receptores de acetilcolina, que ocorre quando há um acúmulo excessivo de
134 acetilcolina na sinapse devido à inibição inadequada da acetilcolinesterase que resulta em
135 uma interferência na função sináptica, que pode causar efeitos como depressão
136 respiratória, salivação, broncoespasmos e bradicardia (MARRS, 1993).

137 As pesquisas sobre o uso de glifosato, Roundup® e atrazina evidenciam que
138 esses contaminantes desencadeiam alterações nas esferas celular e enzimática do sistema
139 nervoso central (CATTANI et al., 2014; CHÁVEZ-PICHARDO et al., 2020), desregulações
140 metabólicas, distúrbios hormonais, inibição de enzimas hepáticas (JASPER et al., 2012), e

141 ocorrência de estresse oxidativo (DJABER et al., 2020). Além disso, os herbicidas atuam
142 sobre processos biológicos vitais, que podem provocar efeitos colaterais, inclusive sobre o
143 organismo humano, levando por exemplo, a convulsões, enjoos, dermatites, aumento no
144 metabolismo, teratogenicidade, dificuldade respiratória, cânceres, dentre outros
145 (TOWNSON, 1992).

146 Em um estudo realizado por Milić et al. (2018) com ratos da linhagem Wistar,
147 onde a exposição a 10 mg/kg de glifosato ao longo de 28 dias resultou em danos no DNA
148 de células hepáticas, além de diminuição significativa nas concentrações de GSH e
149 aumento na atividade da GPx no fígado. Semelhantemente, Turkmen et al. (2019)
150 avaliaram os efeitos do glifosato em ratos Wistar, com a administração de doses diárias de
151 375 mg/kg ao longo de 56 dias. Os resultados mostraram que o glifosato causou redução
152 nas concentrações de GSH e na atividade da SOD e CAT nos tecidos nervoso, cardíaco,
153 hepático e renal, que indicou diminuição das defesas antioxidantes. Del Rio (2005)
154 identificou aumento na concentração de MDA, nos mesmos tecidos, bem como no sangue,
155 que evidencia o processo de lipoperoxidação.

156 O Roundup®, além de ter o glifosato na composição, possui também o
157 surfactante polioxietilenamina (POEA) que facilita a difusão do glifosato na folha (COX;
158 SURGAN, 2006; LIU, 2004). A presença do POEA parece ser três vezes mais tóxica do que
159 a presença apenas do glifosato (GIESY; DOBSON; SOLOMON, 2000). Djaber et al. (2020),
160 constataram em ratos Wistar tratados com doses de 269,9 mg/kg de Roundup® por 30 dias,
161 a diminuição nas defesas antioxidantes, tanto enzimáticas quanto não enzimáticas,
162 incluindo CAT, GPx, SOD, GST, GSH. Além disso, foi observado aumento na concentração
163 de MDA e elevação na PCO no fígado e nos rins desses animais. Owagboriaye et al. (2019)
164 demonstraram que ratos Wistar submetidos a doses diárias de 3,6 mg/kg, 50,4 mg/kg e
165 248,4 mg/kg de Roundup® durante 12 semanas apresentaram diminuição nas
166 concentrações de GSH no grupo de dose mais alta, bem como redução na atividade da
167 catalase (CAT) em todos os grupos; observou-se aumento na lipoperoxidação de forma
168 dependente da dose. Em outro estudo com o Roundup®, a dose de 485 mg/kg de peso
169 corpóreo, por gavagem durante 75 dias, provocou danos hepáticos (BENEDETTI et al.,
170 2004).

171 Em relação a atrazina, no estudo conduzido por Santa Maria, Moreno e López-
172 Campos (1987), a atrazina foi administrada por via de gavagem em ratos Wistar em quatro
173 diferentes doses (100, 200, 400 e 600 mg/kg). As três primeiras doses foram administradas
174 ao longo de um período de 14 dias, enquanto a última dose foi administrada por um período
175 de 7 dias. Foi observada redução no peso corporal dos ratos de forma dependente da dose,

176 resultado semelhante ao que foi observado no estudo de Tsutsui (2022). Liu et al. (2014)
177 estudaram o tecido renal de ratas Wistar que receberam 125 mg/kg de atrazina ao longo
178 de 28 dias e observaram redução na atividade das enzimas CAT, SOD e GPx, que indica
179 a indução de estresse oxidativo pelo contaminante. Campos-Pereira et al. (2012) também
180 constataram estresse oxidativo e lipoperoxidação no fígado, após 14 dias de administração
181 de 400 mg/kg de atrazina em ratos Wistar. Abarikwu (2014) identificou diminuição na
182 atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, bem como aumento na concentração de
183 MDA no cérebro, rins e fígado de ratos Wistar submetidos à administração de 120 mg/kg
184 de atrazina.

185 Neste contexto, fica evidente a extensão dos efeitos tóxicos promovidos pelos
186 herbicidas glifosato, Roundup® e atrazina por meio de diferentes protocolos de doses e
187 modelos experimentais. Por isso, buscar formas de impedir ou minimizar esses efeitos
188 negativos é extremamente relevante à sustentabilidade; assim, a utilização de
189 nanopartículas de óxido de ferro é uma possibilidade. As nanopartículas de óxido de ferro
190 têm revelado seu potencial como soluções eficazes na remoção de poluentes ambientais
191 (SILVA; PINEDA; BERGAMASCO, 2015; GUTIERREZ; DZIUBLA; HILT, 2017). Isso se deve
192 ao tamanho reduzido dessas nanopartículas, que varia entre 1 e 100 nanômetros, e uma
193 alta razão área superfície/volume. Entre essas nanopartículas, destacam-se a hematita (α -
194 Fe_2O_3), a maghemita (γ - Fe_2O_3) e a magnetita (Fe_3O_4). Devido ao seu reduzido tamanho,
195 essas nanopartículas apresentam elevada relação entre superfície e volume, o que resulta
196 em alta reatividade e capacidade de adsorção para diversos herbicidas (SCHWANDT et al.,
197 1992; LEONE et al., 2001; PROCÓPIO et al., 2001; GUTIERREZ; DZIUBLA; HILT, 2017;
198 ORCELLI et al., 2018; PEREIRA et al., 2019).

199 São várias as aplicações das nanopartículas de óxido de ferro, tais como
200 transporte de fármacos, ação antimicrobiana, contraste em ressonância magnética e
201 tratamento de doenças (ARIAS et al., 2018; DADFAR et al., 2019). As nanopartículas de
202 óxido de ferro podem atravessar membranas celulares e barreiras biológicas, e em certas
203 doses, podem provocar alterações fisiológicas (SINGH et al., 2010). Quando internalizadas
204 pelas células, essas nanopartículas podem ser degradadas pelos lisossomos, que liberam
205 o ferro contido nelas, e por meio da reação de Fenton, pode atuar como um catalisador na
206 formação de espécies reativas de oxigênio e no desencadeamento de estresse oxidativo
207 (VOLATRON et al., 2017; YARJANLI et al., 2017).

208 Estudos conduzidos por Wu, Ding e Sun (2013) em ratos Sprague Dawley, que
209 receberam magnetita por instilação nasal (1 a 4 doses de 20 mg), observaram o acúmulo
210 dessa nanopartícula principalmente no bulbo olfatório, estriado e hipocampo, resultando em

estresse oxidativo. Além disso, constatou-se que a magnetita pode levar à ocorrência de estresse oxidativo e à comprometimento da barreira hematoencefálica (IMAM et al., 2015). Outros estudos, como o de Jain et al. (2008), também identificaram aumento plasmático da atividade de AST, ALT e aumento nas concentrações de ferro no sangue, fígado, baço, cérebro e coração após administração endovenosa de 10 mg/kg de magnetita durante um período de 21 dias. Alarifi et al. (2014) realizaram uma investigação dos efeitos das nanopartículas de magnetita em células de câncer de mama humano da linhagem MCF-7. As nanopartículas foram diluídas em meio de cultura celular nas concentrações de 10, 30, 60 e 120 µg/mL. Os autores constataram que, à medida que as concentrações de magnetita aumentavam, ocorria redução nas concentrações de GSH e na atividade da SOD e CAT, além de aumento na lipoperoxidação e danos no DNA celular. Zhu et al. (2017) observaram que 100-600 mg/L da nanopartícula de hematita em culturas de *Saccharomyces cerevisiae*, levaram a morte celular, e o aumento na atividade enzimática da SOD, CAT e GPx,

Entretanto, outra nanopartícula de óxido de ferro que tem despertado considerável interesse é a ferrihidrita ($\text{Fe}_5\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). Esta nanopartícula está amplamente distribuída no meio ambiente, abundantemente encontrada tanto no solo quanto no corpo humano, onde desempenha papel fundamental como componente do núcleo da ferritina, uma proteína responsável pelo armazenamento de ferro em nosso organismo (CHILOM et al., 2020; SVOBODOVA et al., 2020). A ferrihidrita é conhecida por sua notável característica de possuir uma das maiores áreas superficiais dentre as nanopartículas de óxido de ferro, variando de 200 a 400 m²/g, o que a torna significativamente superior a outros óxidos de ferro que possuem áreas superficiais inferiores a 100 m²/g. Essa excepcional propriedade confere à ferrihidrita uma capacidade notável de adsorver moléculas orgânicas (PEREIRA et al., 2019) e de coprecipitar íons em solução. Como resultado, ela é frequentemente empregada para a remoção de contaminantes de natureza industrial e ambiental (WEATHERILL et al., 2016).

Portanto, ao consultar a literatura científica, torna-se evidente que os resultados obtidos podem variar dependendo do tipo de óxido de ferro, da dose e da via de administração empregados. Yun et al. (2015), mostrou que não houve toxicidade, e nenhuma alteração nos termos de mortalidade, peso corpóreo, ingestão alimentar, observações clínicas, parâmetros hematológicos e bioquímicos, e lesões histológicas de ratos Sprague-Dawley machos e fêmeas que receberam hematita na concentração de 2000 mg/kg de peso corpóreo por 14 dias via oral. Entretanto, no estudo conduzido por Askri et al. (2019), os ratos Wistar receberam, via gavagem, uma única dose de 100 ou 200 mg/kg de magnetita, e apresentaram aumento na atividade da ALT na dose de 200 mg/kg,

diferindo dos estudos de Tsutsui (2022), que utilizou dose de 1000 mg/kg de ferrihidrita e não observou essa alteração. Por outro lado, Attaran et al. (2018) administraram nanopartículas de hematita (200 mg/kg) em ratos Wistar machos, por via intraperitoneal, ao longo de três dias; esses pesquisadores relataram que as atividades plasmáticas de ALT e fosfatase alcalina não apresentaram alterações significativas, enquanto a atividade da AST aumentou. Gaharwar, Meena e Rajamani (2019) avaliaram a hematita em ratos Wistar, em três doses diferentes (7, 15 e 30 mg/kg) por via intravenosa; não foi observada mortalidade ou alterações no peso corpóreo. No entanto, na dose maior, houve diminuição da ingestão alimentar e aumento nas concentrações de ferro no sangue e no cérebro. Diferente do estudo realizado por Tsutsui (2022), em que foi observado que a ferrihidrita, quando administrada isoladamente, 1000 mg/kg dose única por 4 dias, não provocou alterações não apresentou qualquer sinal de toxicidade, não se verificaram alterações no peso ou nas concentrações de ferro sérico.

Apesar dos efeitos promissores da ferrihidrita para minimizar danos causados pelos herbicidas, este tema ainda não foi explorado, e até onde sabemos, não há trabalhos na literatura avaliando o potencial da ferrihidrita como remediador da toxicidade de herbicidas. São raros os estudos descrevendo o papel protetor de nanopartículas sobre os herbicidas glifosato, Roundup® e atrazina em animais de experimentação, em especial que avalia o estresse oxidativo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da ferrihidrita sobre o estresse oxidativo promovido pelo glifosato, Roundup® e atrazina, por meio da quantificação de parâmetros que avaliam defesa antioxidante e danos oxidativos.

281 **2 OBJETIVOS**

282

283 **2.1 Objetivo geral**

284 O objetivo deste trabalho foi avaliar, em ratos Wistar, se a nanopartícula de
285 ferrihidrita é eficaz em evitar os efeitos tóxicos provocados pelos herbicidas glifosato,
286 Roundup® e atrazina, por meio de parâmetros que avaliam a defesa antioxidante e danos
287 oxidativos.

288

289 **2.2 Objetivos específicos**

290 Com a administração dos herbicidas isolados ou em combinação com a ferrihidrita,
291 buscou-se avaliar:

292

293 a) a concentração ou atividade das defesas antioxidantes, para determinar os possíveis
294 efeitos da nanopartícula em proteger ou não contra o estresse oxidativo;

295

296 b) os danos teciduais pelas análises de lipoperoxidação e carbonilação proteica, com o
297 intuito de determinar a extensão dos danos causados pelos contaminantes e a possível
298 proteção provocada pela nanopartícula;

299

300 c) a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) no cérebro, com intuito de verificar se
301 a nanopartícula promove ou não alterações nas transmissões sinápticas, para determinar
302 possível efeito protetor da nanopartícula neste órgão.

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316 3 METODOLOGIA

317

318 3. 1 Animais

319 Para este trabalho, foram utilizados 64 ratos adultos, da linhagem Wistar,
320 pesando entre a 260 a 290 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual
321 de Londrina. Os ratos foram mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Ciências
322 Fisiológicas (CIF), em gaiolas individuais, por 5 dias para adaptação antes do início dos
323 experimentos, em ambiente controlado de luz (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura ($22 \pm$
324 2°C) e com alimento e água *ad libitum*. Todos os experimentos foram realizados no
325 LaFiNeM - Laboratório de Fisiologia Neuroendócrina e Metabolismo, do CIF, sempre entre
326 9 e 11 h da manhã para minimizar as interferências do ciclo circadiano dos animais. Este
327 protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEL CEUA (protocolo
328 nº. 057.2021, OF.CIRC.CEUA nº 11/2022, Anexo 1).

329

330 3.2 Nanopartícula

331 A nanopartícula de óxido de ferro ferrihidrita ($\text{Fe}_5\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) foi sintetizada em
332 água destilada (CARNEIRO et al., 2013), analisada e caracterizada pelas técnicas de
333 fluorescência de raios-X, termogravimetria, espectroscopia Mössbauer, espectroscopia
334 vibracional e espectroscopia Raman pelos laboratórios de Química Prebiótica, Física
335 Nuclear Aplicada, e Espectroscopia da Universidade Estadual de Londrina e de Agronomia
336 Experimental da Universidade Estadual de Maringá, a qual apresenta tamanho menor que
337 200 nm, área superficial entre $200\text{-}400\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ e pH_{pzc} entre 6,4-8,5 (PEREIRA et al., 2019).

338 A ferrihidrita, misturada em água de torneira, foi administrada via gavagem na
339 dose de 1000 mg/kg peso corpóreo, isolada ou associada aos herbicidas. Considerando
340 que o glifosato interage fortemente com a ferrihidrita, e que 80% desta interação é como
341 um complexo de esfera interna e que os grupos fosfato e amina estão envolvidos, a dose
342 da nanopartícula foi escolhida baseada nessa capacidade adsortiva para garantir boa
343 adsorção aos herbicidas (CRUZ et al., 2007; BENETOLI et al., 2010; PEREIRA et al., 2019).

344

345 3.3 Herbicidas

346 Foram adquiridos na ADAMA Brasil (Londrina, PR), por doação, o glifosato, na forma
347 de sal puro, e o herbicida Roundup® Original (Monsanto do Brasil, LTDA), composto de 480
348 g/L de sal de isopropilamina de glifosato, 360 g/L de equivalente ácido de n-fosfonometil-
349 glicina (glifosato) e 684 g/L de ingredientes inertes. O formulado da atrazina (6-chloro-N2-
350 ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine), Gesaprim 500 CibaGeigy, foi adquirido na

351 Agroterra Implementos e Defensivos Agrícolas (Ibiporã-PR) e possui, em sua composição,
352 500 g/L do princípio ativo atrazina e 600 g/L de ingredientes inertes.

353 Cada herbicida foi administrado por gavagem utilizando-se cânula de gavagem
354 apropriada para ratos (agulha-cânula de gavagem para roedores, Insight Ltda., SP), sendo
355 o volume administrado de 0,4 mL/100 g peso corpóreo, na dose de 1000 mg/kg de peso
356 corpóreo. Essa dose foi baseada nos protocolos de avaliação de toxicidade do *guideline*
357 *Test No.423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method* elaborado pela *Organisation*
358 *for Economic Cooperation and Development* (OECD, 2001).

359 Anteriormente, em nosso laboratório, foram realizados testes piloto com doses
360 menores dos herbicidas (100, 300 e 600 mg/kg de peso corpóreo). No entanto, não foram
361 detectadas alterações significativas em comparação com o grupo de controle. Como o
362 objetivo principal deste estudo é investigar o potencial protetor da nanopartícula de
363 ferrihidrita, é fundamental que os herbicidas e seus formulados causem alterações para que
364 o efeito protetor possa ser avaliado adequadamente. Portanto, optou-se por utilizar a dose
365 de 1000 mg/kg, conforme indicado nas diretrizes da *European Medicines Agency* (EMA,
366 2010), que corresponde à metade da dose máxima recomendada pela OECD (2001). Por
367 último, vale ressaltar que a escolha das quatro administrações e dose foi feita para impactar
368 os parâmetros avaliados neste trabalho, sem prejudicar a análise estatística deste estudo,
369 visto que com 5 administrações dos herbicidas, em teste anterior, observou-se que a
370 mortalidade nos grupos era de 80 a 100%.

371

372 **3.4 Protocolo Experimental**

373 Os ratos foram submetidos, sempre entre 9 e 11 h, à administração de dose única
374 diária, por 4 dias, dos componentes, constituindo 8 grupos (8 ratos/grupo), sendo eles:

- 375 - glifosato (grupo G), 1000 mg/kg peso corpóreo;
- 376 - formulado a base de glifosato-Roundup® (grupo R), 1000 mg/kg peso corpóreo;
- 377 - formulado a base de atrazina (grupo A), 1000 mg/kg peso corpóreo;
- 378 - ferrihidrita (grupo F), 1000 mg/kg peso corpóreo;
- 379 - ferrihidrita associada ao glifosato (grupo FG), 1000 mg/kg peso corpóreo de cada
380 substância;
- 381 - ferrihidrita associada ao formulado à base de glifosato-Roundup® (grupo FR), 1000 mg/kg
382 peso corpóreo de cada substância;
- 383 - ferrihidrita associada ao formulado à base de atrazina (grupo FA), 1000 mg/kg peso
384 corpóreo de cada substância;
- 385 - água de torneira (grupo C), animais controles.

386 **3.5 Eutanásia**

387 Após 24 h da última gavagem, todos os ratos foram submetidos à decapitação,
388 sendo imediatamente retirados o lobo medial esquerdo do fígado, os rins e o cérebro e
389 armazenados em freezer a -86 °C para análises bioquímicas do estresse oxidativo.

390

391 **3.6 Análises bioquímicas do estresse oxidativo**

392 Para as análises bioquímicas do estresse oxidativo, os tecidos foram pesados e
393 homogeneizados em tampão fosfato de potássio (0,1 M; pH 7,0), na diluição 1:10,
394 centrifugados (20 min, 14.700 x g, 4 °C) e o sobrenadante separado e utilizado para as
395 análises descritas nos itens posteriores. Os resultados foram expressos em gramas de
396 proteína (g prot⁻¹), sendo determinada pelo método de Bradford et al. (1976).

397

398 **3.6.1 Antioxidante não enzimático**

399 A concentração de glutathiona reduzida (GSH) foi mensurada pela reação da
400 glutathiona com o 5,5'-ditiobis-2-ácido nitrobenzóico (DTNB), formando o tiolato (TNB) de cor
401 amarelada, sendo determinada em 412 nm. A concentração de GSH foi determinada a
402 partir de uma curva padrão para GSH e os valores expressos em µg GSH.g prot⁻¹
403 (BEUTLER; DURON; KELLY, 1963).

404

405 **3.6.2 Enzimas antioxidantes**

406 A atividade da glutathiona-S-transferase (GST) foi medida pela complexação da
407 glutathiona reduzida (GSH) com o 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) e expressa em nmol
408 conjugado.min⁻¹.g prot⁻¹. A conjugação de glutathiona reduzida (GSH) com CDNB catalisada
409 pela GST foi monitorada por 1 min a 340 nm (KEEN; HABIG; JAKOBI, 1976).

410 A atividade da CAT foi avaliada pela velocidade de decomposição de peróxido de
411 hidrogênio (H₂O₂) pelo decréscimo da absorbância, em 240 nm, sendo expressa em µmol
412 H₂O₂.min⁻¹.g prot⁻¹ (BEUTLER; DURON; KELLY, 1963).

413

414 **3.6.3 Peroxidação lipídica (LPO)**

415 O grau de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) foi determinada pelos
416 teores de malondialdeído (MDA) medidos pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) no
417 ensaio TBARS, método colorimétrico (FEDERICI; SHAW; HANDY, 2007), em que o MDA
418 presente na amostra reage com o TBA, em alta temperatura e meio ácido, formando MDA-
419 TBA mensurado por espectrofotometria em 530-540 nm, sendo a concentração de MDA
420 expressa em pmol.g prot⁻¹.

421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454

3.6.4 Carbonilação proteica (PCO)

O dano oxidativo às proteínas foi mensurado pelo teor de proteína carbonil (PCO), determinado segundo Levine et al. (1994), por meio da reação da 2,4- dinitrofenil-hidrazina (DNPH) com proteínas carboniladas formando dinitrofenil-hidrazona, que pode ser detectada à 360nm, sendo sua concentração expressa em nmol carbonil.g prot⁻¹.

3.7 Acetilcolinesterase (AChE)

A atividade da AChE foi determinada com base no método calorimétrico de Ellman et al. (1961) adaptado para leitura em microplaca, de acordo com Alves Costa et al. (2007). A atividade da enzima foi determinada pela quantificação do produto da reação da acetilcolina com 5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB), em 415 nm. A atividade da enzima foi expressa em nmol DTNB.min⁻¹.g prot⁻¹.

3.8 Análise estatística

Nos dados que atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade, foi utilizado o teste ANOVA *one-way*. Nos dados em que o teste ANOVA indicou diferença entre as médias, foi utilizado o pós-teste Student Newman Keuls. Os resultados obtidos pelo teste paramétrico foram expressos em média ± erro padrão da média e representados por gráficos de barras. Quando os dados não atenderam os pressupostos, foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal Wallis seguido do pós-teste de Dunn. Estes resultados foram expressos em gráficos de *boxplot* como mediana, primeiro e terceiro quartis. O nível de significância adotado foi de p<0,05.

455 4 RESULTADOS

456

457 4.1 Efeito da nanopartícula de ferrihidrita

458 A nanopartícula de óxido de ferro ferrihidrita isolada não provocou alterações nas
459 análises de GSH, GST, CAT, AChE, PCO nos órgãos analisados. A ferrihidrita provocou a
460 alteração pontual no fígado, sendo o aumento da peroxidação lipídica ($p<0,05$) conforme
461 observado na figura 1, mas não apresentou alterações na análise de peroxidação lipídica,
462 nos rins (figura 2) ou no cérebro (figura 3).

463

464 4.2 Efeito do glifosato e da associação de ferrihidrita com glifosato

465 O glifosato provocou aumento ($p<0,001$) da atividade de GST no fígado
466 comparado com o grupo controle e quando foi associado à ferrihidrita (grupo FG) esse
467 aumento não foi observado (figura 1). O grupo FG apresentou também aumento da
468 peroxidação lipídica no fígado (figura 1) em relação ao controle ($p<0,05$) e ao glifosato
469 ($p<0,05$). Nos rins, o grupo FG apresentou diminuição das concentrações de GSH em
470 relação ao controle ($p<0,05$) e ao glifosato ($p<0,05$) (figura 2). Não houve qualquer alteração
471 no cérebro dos animais estudados (figura 3). O glifosato e a associação de ferrihidrita com
472 glifosato não levaram a alterações nas análises de PCO, AChE, CAT.

473

474 4.3 Efeito do Roundup® e da associação de ferrihidrita com Roundup®

475 O Roundup® promoveu algumas alterações, como o aumento da peroxidação
476 lipídica no fígado em relação ao controle ($p<0,05$) e a associação com a nanopartícula
477 (grupo FR) evitou este aumento (figura 1), sendo o grupo FR igual ao controle; além disso,
478 o Roundup® diminuiu a atividade da CAT ($p=0,04$) em relação ao controle e o grupo FR
479 apresentou valor igual ao controle, mostrando que a associação com a ferrihidrita evitou
480 esta alteração. Da mesma forma, no cérebro (figura 3), o Roundup® aumentou a
481 concentração de MDA ($p<0,05$) e a associação com a nanopartícula evitou este aumento,
482 sendo o grupo FR igual ao controle. Nos rins, o grupo FR apresentou diminuição na
483 concentração de GSH em relação ao controle (figura 2). O Roundup® e a associação de
484 ferrihidrita com Roundup® não levaram a alterações nas análises de GST, PCO, AChE.

485

486 4.4 Efeito da atrazina e da associação de ferrihidrita com atrazina

487 Os animais que receberam atrazina apresentaram, no fígado, aumento da
488 concentração de GSH em relação ao controle ($p<0,05$), e a associação com a ferrihidrita
489 (grupo FA) evitou este aumento, sendo o grupo FA igual ao controle. Não houve alterações

490 em relação ao GST, LPO, PCO, AChE, CAT, em nenhum dos órgãos avaliados (figura 1,
491 figura 2 e figura 3).

492

493 Todos os resultados descritos acima estão compilados na tabela 1. Nesta tabela,
494 pode-se observar os efeitos do glifosato, Roundup®, atrazina, ferrihidrita isolados, e os
495 herbicidas em associação com a ferrihidrita, nos órgãos analisados frente aos parâmetros
496 avaliados.

497

498

499

500

501

502

503

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

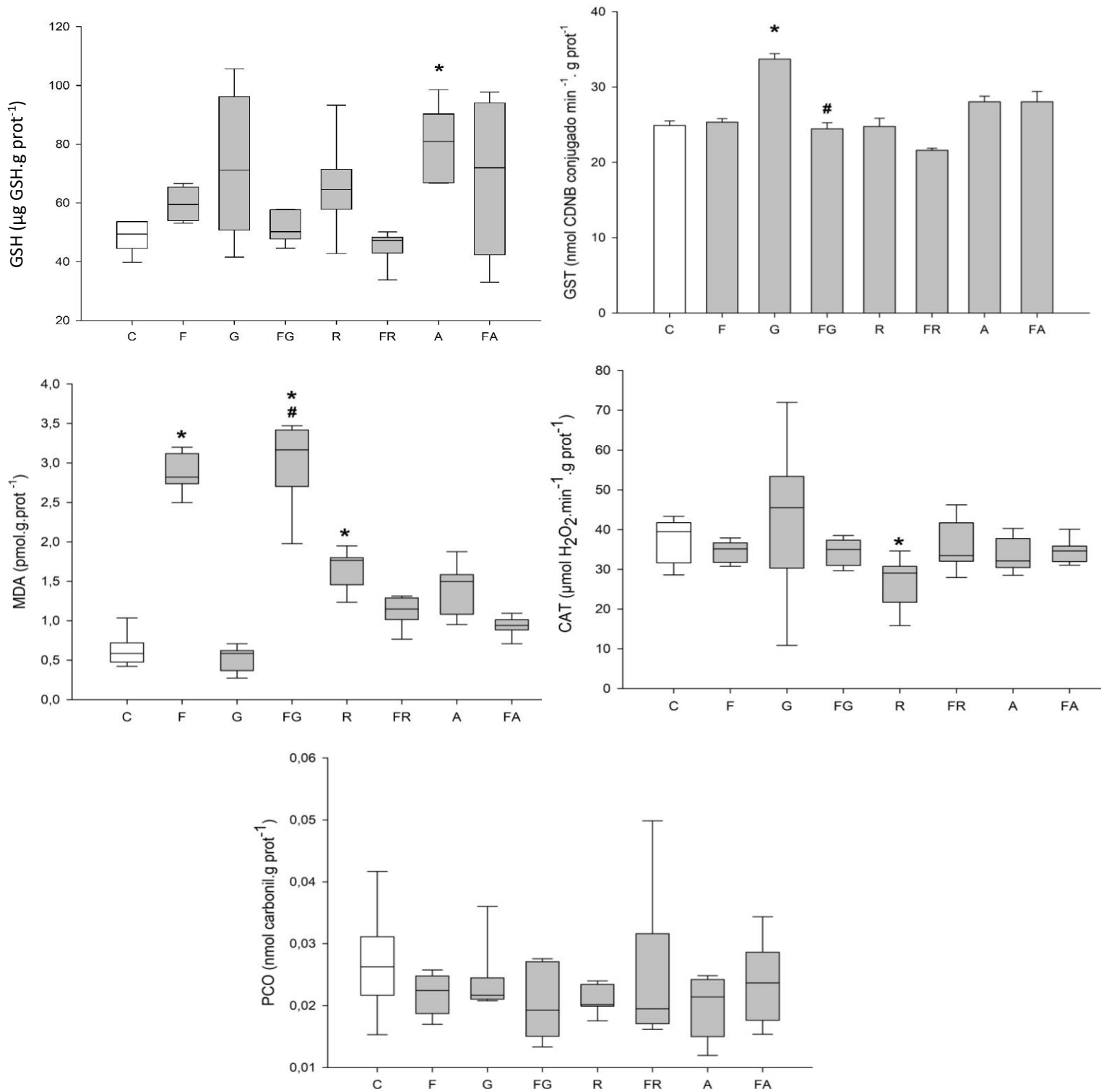
520

521

522

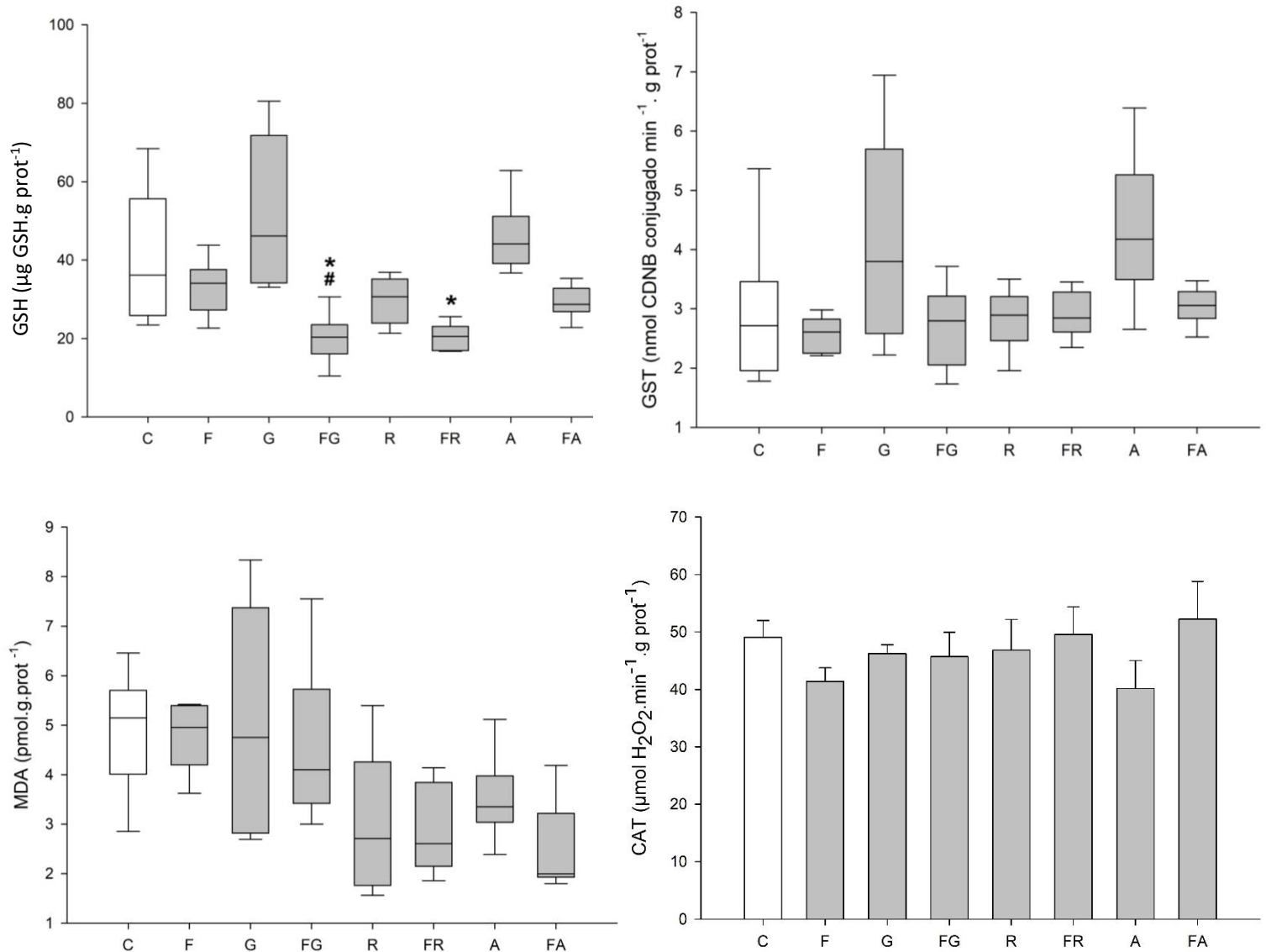
523

FÍGADO



524 **Figura 1.** Valores no fígado de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona-S-transferase (GST),
 525 malondialdeído (MDA), catalase (CAT), proteína carbonil (PCO) de ratos que receberam,
 526 via gavagem, dose única diária (1000 mg/kg de peso corpóreo), por 4 dias, de água de
 527 torneira, sendo o grupo controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F), glifosato (G),
 528 Roundup® (R), atrazina (A), ou a combinação da nanopartícula com os herbicidas. Gráficos
 529 de barras: média $\pm$ EPM. Gráficos *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. *Diferente
 530 do grupo C. #Diferente do respectivo grupo somente com herbicida.

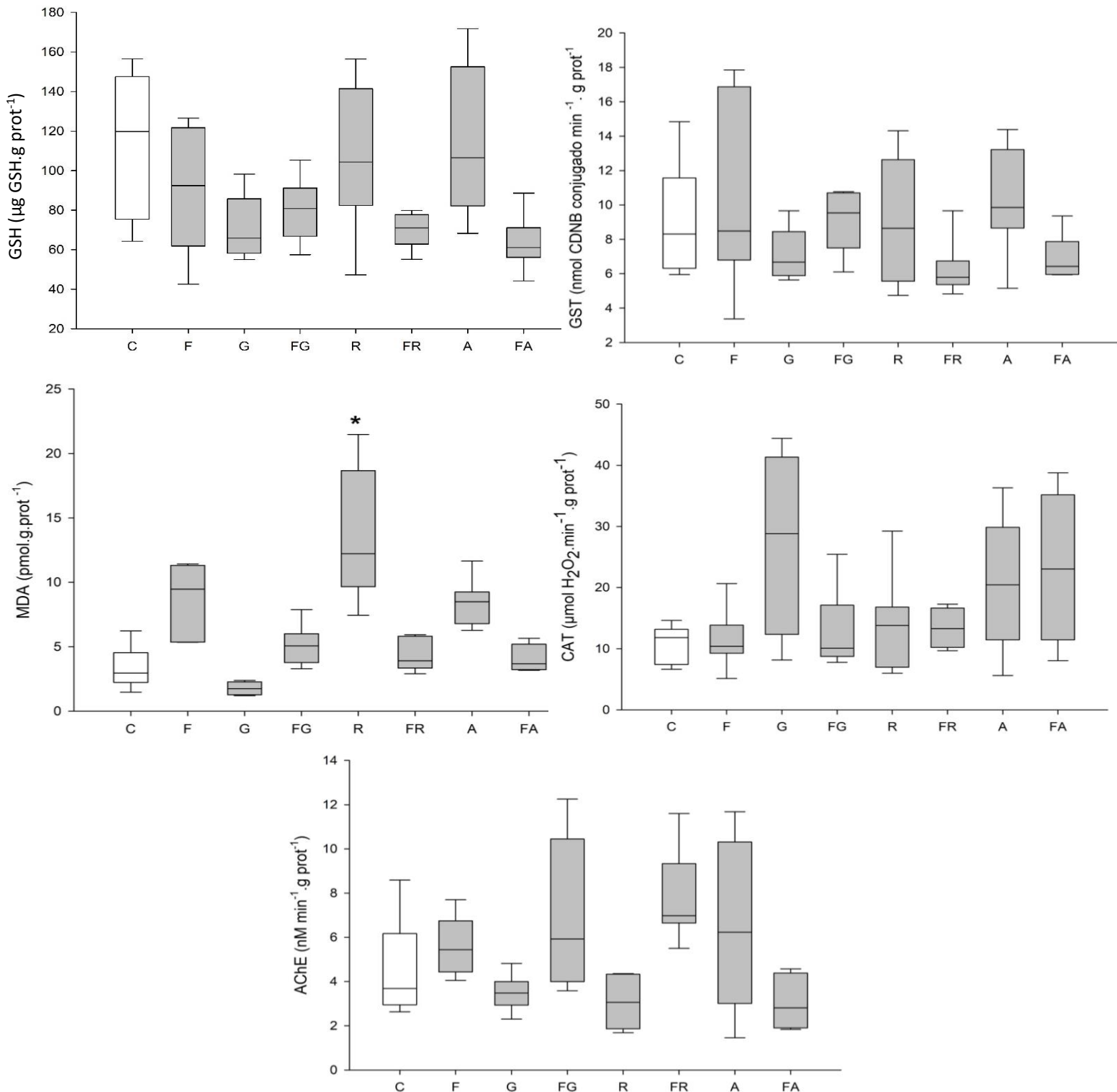
RIM



531 **Figura 2.** Valores no rim de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona-S-transferase (GST),
 532 malondialdeído (MDA), e catalase (CAT) de ratos que receberam, via gavagem, dose única
 533 diária (1000 mg/kg de peso corpóreo), por 4 dias, de água de torneira, sendo o grupo
 534 controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F), glifosato (G), Roundup® (R), atrazina (A), ou
 535 a combinação da nanopartícula com os herbicidas. Gráficos de barras: média $\pm$ EPM.
 536 Gráficos *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. *Diferente do grupo C. #Diferente do
 537 respectivo grupo somente com herbicida.

538

CÉREBRO



539 **Figura 3.** Valores no cérebro de glutathiona reduzida (GSH), glutathiona-S-transferase (GST),
 540 malondialdeído (MDA), catalase (CAT), e acetilcolinesterase (AChE) de ratos que
 541 receberam, via gavagem, dose única diária (1000 mg/kg de peso corpóreo), por 4 dias, de
 542 água de torneira, sendo o grupo controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F), glifosato (G),
 543 Roundup® (R), atrazina (A), ou a combinação da nanopartícula com os herbicidas. Gráficos
 544 *boxplot*: mediana, primeiro e terceiro quartis. *Diferente do grupo C. #Diferente do respectivo
 545 grupo somente com herbicida.

546

547 **Tabela 1.** Compilação dos resultados obtidos em tecidos de ratos Wistar: glutathiona-
 548 reduzida (GSH, $\mu\text{g GSH.g prot}^{-1}$), malondialdeído (MDA, pmol.g prot^{-1}), glutathiona-S-
 549 transferase (GST, $\text{nmol CDNB conjugado.min}^{-1}.\text{g prot}^{-1}$), catalase (CAT, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2.\text{min}^{-1}.\text{g}$
 550 prot^{-1}), proteína carbonil (PCO, $\text{nmol carbonil.g prot}^{-1}$) e acetilcolinesterase (AChE, nmol
 551 $\text{DTNB.min}^{-1}.\text{g prot}^{-1}$).

Grupos	Tecido	GSH	MDA	GST	CAT	PCO	AChE
F	Fígado	=	↑	=	=	=	---
	Rim	=	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	=	=	=	---	=
G	Fígado	=	=	↑	=	=	---
	Rim	=	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	=	=	=	---	=
FG	Fígado	=	↑	=	=	=	---
	Rim	↓	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	=	=	=	---	=
R	Fígado	=	↑	=	↓	=	---
	Rim	=	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	↑	=	=	---	=
FR	Fígado	=	=	=	=	=	---
	Rim	↓	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	=	=	=	---	=
A	Fígado	↑	=	=	=	=	---
	Rim	=	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	=	=	=	---	=
FA	Fígado	=	=	=	=	=	---
	Rim	=	=	=	=	---	---
	Cérebro	=	=	=	=	---	=

552 Os ratos receberam, via gavagem, dose (1000 mg/kg de peso corpóreo) única diária, por 4
 553 dias, de água de torneira, sendo o grupo controle (C), nanopartícula de ferrihidrita (F),
 554 glifosato (G), Roundup® (R), atrazina (A) ou a combinação da nanopartícula com os
 555 herbicidas. ---: parâmetro não avaliado. =: semelhante ao controle. ↑: aumento em relação
 556 ao controle. ↓: redução em relação ao controle.

557

558

559

5 DISCUSSÃO

Estudos com ferrihidrita demonstram claramente sua elevada capacidade em adsorver (PEREIRA et al., 2019) contaminantes no solo e na água (WEATHERILL et al., 2016) e, neste sentido, os dados do presente estudo sugerem que ela pode também prevenir alguns efeitos tóxicos promovidos por herbicidas em ratos.

A literatura mostra que as nanopartículas de óxido de ferro podem também levar ao estresse oxidativo. Segundo Alarifi et al. (2014), diferentes concentrações de hematita (10, 30, 60, e 120 µg/mL), em cultura de células de câncer humano, promoveram depleção de GSH e CAT e aumento da peroxidação lipídica indicado pelo aumento das concentrações de MDA, que evidencia estresse oxidativo. Wu, Ding e Sun (2013), por instilação nasal de magnetita (1 a 4 doses de 20 mg), em ratos Sprague Dawley, observaram acúmulo da nanopartícula principalmente no bulbo olfatório, estriado e hipocampo constatando estresse oxidativo, que sugere danos na barreira hematoencefálica, fato este demonstrado também por Imam et al. (2015).

Como visto, as nanopartículas de óxido de ferro podem promover o estresse oxidativo. Percebe-se o mesmo em nossos resultados, com o aumento específico nas concentrações de MDA no fígado promovido pela ferrihidrita, que indica peroxidação lipídica nesse órgão; interessante notar que houve apenas alterações no fígado, mas não nos rins ou cérebro. O fígado é considerado o órgão mais importante no controle do processo oxidativo frente à exposição a substâncias químicas, o que poderia explicar a presença de lipoperoxidação nesse órgão (MORENO et al., 2005). Outro aspecto é que o ferro oriundo da ferrihidrita poderia se acumular no fígado. O acúmulo de ferro acontece em maior quantidade no fígado comparado ao cérebro ou aos rins devido à função própria do fígado de regular o ferro, além de ser o órgão metabolizador primário (AGUIAR, 1980).

Os metais, que incluem o ferro, podem promover alteração no equilíbrio entre espécies reativas de oxigênio e no sistema de proteção antioxidante e seus efeitos tóxicos resultam em alterações no funcionamento das células, que pode resultar em graves lesões celulares e teciduais (GROTTO, 2010) e à morte (RAND; McCARTY, 1995). Isso acontece porque o ferro (Fe^{2+}), por meio da reação de Fenton, reage com o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que produz o radical hidroxil ($\text{OH}^\cdot$), o qual tem a capacidade de agredir lipídeos e resulta na sua peroxidação (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). Além disso, sabe-se que a reação do radical superóxido com lipídios, proteínas e DNA são lentas (HERMES-LIMA, 2004), porém, os íons de metais de transição também podem catalisar a reação entre peróxido de hidrogênio e o radical superóxido, pela chamada reação de Haber-Weiss, que

595 conduz à produção do radical hidroxil (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Corroborar a
596 explicação o estudo em fígado de ratos, em que verificaram que o excesso de ferro levou
597 a peroxidação lipídica em hepatócitos (BACON et al., 1983a, 1983b; ZHANG et al., 2012),
598 e induziu ao estresse oxidativo e dano hepático (ZHANG et al., 2012), assim como
599 observado no presente trabalho.

600 Contribuindo com a explicação, é interessante notar que a hepcidina (HPN), um
601 hormônio peptídico encontrado principalmente no fígado, com função na homeostase do
602 ferro, faz a comunicação entre os locais de absorção, utilização e estoque de ferro; e a
603 super expressão de HPN leva à anemia e morte (NICOLAS et al., 2002; RIVERA et al.,
604 2005), ou seja, a HPN, reduz a absorção de ferro no intestino delgado e a liberação de ferro
605 do fígado para a corrente sanguínea. Sugere-se que o ferro da ferrihidrita liberado no fígado
606 pode estar associado ao aumento da inflamação no órgão (ZHANG et al., 2012). Ademais
607 foi demonstrado que a inflamação nos hepatócitos estimula a produção de HPN (RIVERA
608 et al., 2005). Sendo assim, a HPN evita a liberação do ferro pelo fígado, este ferro pode se
609 concentrar no órgão, que leva a um quadro de estresse oxidativo e consequente
610 peroxidação lipídica neste órgão de forma mais específica (FAIRBANKS; BEUTLER, 2001).

611 Apesar disso, um estudo realizado por Lima-Faria et al. (2023) mostrou que a
612 maghemita administrada por 7, 14 e 21 dias levou a alterações na concentração de ferro e
613 integridade do fígado, porém sete dias de pós-exposição, a concentração de ferro retornou
614 aos níveis normais, estatisticamente equivalentes ao grupo de controle. Isso sugere que os
615 danos causados aos fígados dos animais pelas nanopartículas podem ser reversíveis. Além
616 disso, Tsutsui (2022) mostrou que, na mesma dose de 1000 mg/kg, tempo de
617 administração, e modelo experimental utilizado em nosso trabalho, a ferrihidrita isolada não
618 apresentou toxicidade. Portanto, sugere-se, que a alteração pontual que a ferrihidrita
619 isolada apresentou em nosso trabalho, pode ser revertida, e não invalida os efeitos
620 protetores que a ferrihidrita em associação com os herbicidas pode apresentar; visto que
621 alguns estudos sugerem fortemente que, dependendo das associações e do tipo de óxido
622 de ferro, há diferentes respostas. No estudo de Silva et al. (2020), a goethita mostrou
623 toxicidade isolada, mas quando combinada com o glifosato, essa resposta foi atenuada;
624 tais resultados divergem quando a goethita é associada ao Roundup®. O Roundup®
625 isoladamente causou efeitos citotóxicos e genotóxicos, enquanto a combinação deste
626 herbicida com a goethita resultou em uma potencialização sinérgica da toxicidade. Trigueiro
627 et al. (2021) mostraram que a co-exposição da nanopartícula de maghemita com o
628 Roundup® resultou em danos no DNA mais pronunciados em comparação com a exposição
629 apenas à nanopartícula ou ao grupo controle, indicando uma interação sinérgica. Portanto,

630 torna-se evidente que os efeitos das nanopartículas de óxido de ferro variam em relação ao
631 tipo e as associações com os herbicidas.

632 Em nosso trabalho, no grupo glifosato, houve um aumento da atividade da GST no
633 fígado, e pode-se inicialmente acreditar que a ferrihidrita impediu o aumento da GST
634 provocada pelo glifosato. Contudo, tal resultado não necessariamente é positivo, visto que
635 foi observado aumento nas concentrações de MDA no grupo FG, indicando estresse
636 oxidativo no fígado neste grupo em relação ao controle e ao glifosato. Em um estudo,
637 Hermes-Lima e Storey (1993) observaram que a atividade de GST, *in vitro*, é inibida na
638 presença de agentes oxidantes $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 e Fe^{2+} . Portanto, a diminuição da GST no grupo
639 FG em relação ao grupo G, pode significar que na realidade houve aumento do acúmulo de
640 ferro da ferrihidrita e a geração de compostos oxidantes no fígado; e não que a ferrihidrita
641 evitou o estresse oxidativo induzido pelo glifosato no fígado.

642 A GST tem função de atenuar a peroxidação lipídica, porque algumas das
643 isoenzimas de GST podem reduzir de forma eficiente hidroperóxidos de ácidos graxos e
644 hidroperóxidos de fosfolípidos, que interrompe a cadeia autocatalítica da lipoperoxidação.
645 Os hidroperóxidos lipídicos são muito instáveis e facilmente se decompõem em produtos
646 secundários, como aldeídos e MDAs. A GST também protege as células dos produtos da
647 lipoperoxidação que são tóxicos (HERMES-LIMA, 2004). Com isso, o aumento da atividade
648 da GST hepática observada no grupo G, pode ser a razão pela qual este grupo não
649 apresentou aumento nas concentrações de MDA no fígado. Seguindo esta mesma linha de
650 raciocínio, a redução na atividade da GST no grupo FG em relação ao grupo glifosato, pode
651 estar relacionada com o aumento na concentração de MDA no fígado observada nesse
652 grupo.

653 Faria et al. (2021) conduziram um estudo para investigar os efeitos da nanopartícula
654 de óxido de ferro maghemita, administrada isoladamente ou em combinação com o
655 glifosato, sobre parâmetros bioquímicos e histológicos no fígado de peixes *Poecilia*
656 *reticulata*. A maghemita foi administrada em concentração de 0,3 mg/L, isoladamente ou
657 em combinação com o glifosato (65 mg/L) ao longo de três períodos (7, 14 ou 21 dias). Os
658 resultados revelaram que as combinações da nanopartícula com o glifosato causaram
659 toxicidade no tecido hepático. Lima-Faria et al. (2023), observaram que a maghemita em
660 combinação com glifosato resultou em alterações na distribuição de lipídios nas células
661 hepáticas em peixes *Poecilia reticulata*, que sugere um impacto adverso nos tecidos
662 hepáticos e a ocorrência de peroxidação lipídica como parte da resposta ao estresse
663 oxidativo. Apesar de os trabalhos de Faria et al. (2021) e de Lima-Faria et al. (2023) terem
664 sido realizados com a maghemita e os parâmetros avaliados serem diferentes dos

665 analisados no presente trabalho, ambos mostraram um padrão semelhante, onde a
666 associação do glifosato com a nanopartícula de óxido de ferro sugere toxicidade e LPO nos
667 hepatócitos.

668 A ferrihidrita em associação com o glifosato e com o Roundup® diminuiu a
669 concentração de GSH nos rins podendo indicar que houve um consumo e utilização do
670 GSH, mas sem resultar em danos oxidativos maiores, visto que não houve alterações nos
671 demais parâmetros, incluído LPO. Isso ocorre porque a GSH além de ser utilizada na
672 conjugação de xenobióticos com a GST como catalisadora, atua como substrato para a
673 atividade de GPx. As GPx são conhecidas por oferecerem proteção contra a
674 lipoperoxidação ao interromper a cascata de peroxidação lipídica através da redução de
675 hidroperóxidos (HERMES-LIMA, 2004). Sendo assim, mecanismos de defesa podem ter
676 sido eficientes em equilibrar as concentrações de MDA, consumindo o GSH. Alguns
677 estudos mostram concentrações de MDA inalterados ou até diminuídos em diferentes
678 órgãos de peixes e outros organismos aquáticos expostos a poluentes; o MDA inalterado
679 em situações de GSH diminuído pode ser atribuído à elevada capacidade antioxidante, que
680 supera os efeitos da peroxidação lipídica (NOGUEIRA et al., 2013; PIAZZA et al., 2016;
681 RANSBERRY et al., 2016; UBANI-REX et al., 2017; SILVA et al., 2018; LIMA et al., 2019).
682 Segundo Hunt (2017), embora o modelo experimental seja muito distante do utilizado no
683 presente trabalho, há uma notável conservação evolutiva do mecanismo molecular de
684 equilíbrio redox que permite estudar organismos mais simples para entender e descrever a
685 toxicidade na avaliação de estresse oxidativo em organismos mais complexos, uma vez
686 que os processos fisiológicos e as respostas ao estresse são conservados.

687 Em relação ao Roundup®, o aumento que o herbicida provocou nas concentrações
688 de MDA no fígado e no cérebro indicam peroxidação lipídica; resultados semelhantes são
689 encontrados em outros estudos realizados com o Roundup®. O estudo conduzido por
690 Jasper et al. (2012), no qual doses de 50 ou 500 mg/kg de Roundup® foram administradas
691 via gavagem em camundongos Swiss ao longo de um período de 15 dias, mostrou que o
692 Roundup® resultou em perda de peso, induziu a lipoperoxidação hepática. No estudo de El-
693 Shenawy (2009) com ratos Wistar, 269,9 mg/kg de peso corpóreo de Roundup®, por 14
694 dias, observou diminuição da GSH e o aumento da LPO no fígado. Também foi observado
695 estresse oxidativo no SNC em ratos Wistar com administração do Roundup® (CATTANI et
696 al., 2014). No presente trabalho, o aumento na peroxidação lipídica provocado pelo
697 Roundup® no fígado e cérebro, foi revertida pela associação com a ferrihidrita, que sugere
698 papel protetor da ferrihidrita sobre o estresse oxidativo promovido pelo Roundup® nos dois
699 órgãos.

Além disso, ainda em relação ao Roundup®, percebe-se que este provocou diminuição na atividade da CAT no fígado corroborando o estudo realizado por Owagboriaye et al. (2019), em que mostraram que ratos Wistar que receberam doses diárias de 3,6 mg/kg, 50,4 mg/kg e 248,4 mg/kg de Roundup® por 12 semanas, apresentaram redução na atividade da CAT. Esta mesma diminuição foi observada por Djaber et al. (2020), utilizando ratos Wistar que receberam doses de 269,9 mg/kg de Roundup® por 30 dias. A inibição da atividade da CAT pode acontecer através do aumento de H₂O₂ e/ou de radicais superóxido (RUAS et al., 2008). Neste contexto, a diminuição da atividade da CAT promovida pelo Roundup® pode indicar estresse oxidativo gerado por este herbicida, e a associação com a nanopartícula de ferrihidrita reverteu esse quadro.

Vale destacar que, no presente trabalho, a peroxidação lipídica no fígado e no cérebro foi provocada pelo Roundup®, mas não foi provocada pelo glifosato; além disso, nos mesmos órgãos, o Roundup® comparado ao glifosato, provocou maior concentração de MDA e menor atividade da CAT, que indicam maior promoção de estresse oxidativo pelo Roundup® do que pelo glifosato; resultados semelhantes são observados na literatura. O Roundup® é um formulado que tem em sua composição a polioxietileno amina (POEA), que engloba uma classe de surfactantes com uma estrutura química em comum (VAN OS, 1998). O POEA utilizado como adjuvante no Roundup® original, formulado empregado neste estudo, contém uma mistura de surfactantes (OWAGBORIAYE et al., 2019). Estudos sugerem que o POEA é considerado até três vezes mais tóxico que o próprio glifosato (NAVARRO; MARTINEZ, 2014), o que contribui para a explicação do porquê do Roundup® ter apresentado maiores efeitos tóxicos em comparação com aqueles apresentados apenas pelo glifosato. El-Shenawy (2009) em ratos Wistar com 269,9 mg/kg de Roundup® e 134,95 mg/kg de glifosato, por 14 dias, observou diminuição nas concentrações de GSH e o aumento nas concentrações de MDA no fígado com os dois herbicidas, sendo que o Roundup® promoveu aumento da peroxidação lipídica maior do que o observado para o grupo do glifosato, que pode indicar que o formulado tem um efeito mais tóxico em relação às defesas antioxidantes. Além disso, Owagboriaye et al. (2019), avalia ratos Wistar expostos a doses (3,6; 50,4 e 248 mg/kg) de glifosato e Roundup®, via oral, durante 12 semanas, verificaram que ambos os herbicidas aumentaram a concentração de GSH no sangue, porém o Roundup® mostrou-se mais tóxico promovendo também depleção da atividade da CAT e aumento nas concentrações de MDA.

Com relação a atrazina, o aumento nas concentrações de GSH no fígado pode indicar estresse oxidativo promovido por este herbicida; visto que a atrazina pode gerar as ERO (CAMPOS-PEREIRA et al. 2012), e que a GSH tem papel importante na

biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo (OSTROWSKI; KISTLER, 1980). Slaninova et al. (2009), observaram que organismos aquáticos tem resposta adaptativa que aumenta a síntese de GSH em quadros de estresse oxidativo moderado. Nesta situação há a indução da enzima γ -glutamil-cisteína sintetase, que controla biossíntese de GSH no citoplasma. Tal enzima está presente não somente em organismos aquáticos, mas também em ratos e humanos (LASH, 2005). Sendo assim, o aumento nas concentrações de GSH apresentada pelos animais do presente estudo, que receberam atrazina, pode indicar estresse oxidativo moderado e um aumento nos compostos oxidantes. Vale destacar que a associação da atrazina com a nanopartícula evitou este aumento, sugere-se neste caso, que o papel da ferrihidrita em evitar o aumento nas concentrações de GSH no fígado é plausível.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho mostram que a nanopartícula de óxido de ferro ferrihidrita, apesar de promover peroxidação lipídica no fígado quando isolada, e não apresentar resultados consistentes em relação ao glifosato, foi eficaz em evitar algumas alterações provocadas pelo Roundup® e atrazina; quando associada com o Roundup® foi capaz de impedir o estresse oxidativo no fígado e no cérebro, e quando associada com a atrazina evitou o estresse oxidativo no fígado. Portanto, a ferrihidrita se mostrou capaz de minimizar os danos causados pelos herbicidas Roundup® e atrazina apresentando potencial como remediadora da toxicidade desses herbicidas.

770

771 **7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

772

773 ABARIKWU, S. O. Protective effect of quercetin on atrazine-induced oxidative stress in the
 774 liver, kidney, brain, and heart of adult Wister rats. **Toxicology International**, v. 21, n. 2, p.
 775 148-156, 2014. DOI: <https://doi.org/10.4103/0971-6580.139794>

776 AGUIAR, O. G. Função hepática e anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 30,
 777 n. 1, p. 67-80, 1980.

778 ALARIFI, S.; ALI, D.; ALKAHTANI, S; ALHADER, M. S. Iron oxide nanoparticles induce
 779 oxidative stress, DNA damage, and caspase activation in the human breast cancer cell line.
 780 **Biological Trace Element Research**, v. 159, p. 416–424, 2014. DOI:
 781 <https://doi.org/10.1007/s12011-014-9972-0>

782 ALVES COSTA, J. R. M. A.; MELA, M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; PELLETIER, E.; RANDI,
 783 M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. Enzymatic inhibition and morphological changes in
 784 *Hoplias malabaricus* from dietary exposure to lead (II) or methylmercury. **Ecotoxicology and**
 785 **Environmental Safety**, v. 67, n. 1, p. 82–88, 2007. DOI:
 786 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.03.013>

787 ARIAS, L. S.; PESSAN, J. P.; VIEIRA, A. P. M.; DE LIMA, T. M. T.; DELBEM, A. C. B.;
 788 MONTEIRO, D. R. Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: a perspective on
 789 synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. **Antibiotics**, v. 7, n. 2, art. 46, p. 1–32,
 790 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics7020046>

791 ASKRI, D.; OUNI, S.; GALAI, S.; CHOVELON, B.; ARNAUD, J.; STURM, N.; LEHMANN, S.
 792 G.; SAKLY, M.; AMARA, S.; SÈVE, M. Nanoparticles in foods? A multiscale
 793 physiopathological investigation of iron oxide nanoparticle effects on rats after an acute oral
 794 exposure: Trace element biodistribution and cognitive capacities. **Food and Chemical**
 795 **Toxicology**, v. 127, p. 173–181, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.03.006>

796 ATTARAN, H. R.; FATEMI, F.; RASOOLI, A.; DADKHAH, A.; MALAYERI, M. R. M.; DINI,
 797 S. *Zataria multiflora* essential oil prevents iron oxide nanoparticles-induced liver toxicity in
 798 rat model. **Journal of Medicinal Plants and By-products**, v. 1, p. 15–24, 2018. DOI:
 799 <https://dx.doi.org/10.22092/JMPB.2018.116724>

800 BACON, B. R.; BRITTENHAM, G. M.; TAVILL, A. S.; MCLAREN, C. E.; PARK, C. H.;
 801 RECKNAGEL, R. O. Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic dietary iron
 802 overload is dependent on hepatic iron concentration. **Transactions of the Association of**
 803 **American Physicians**, v. 96, p. 146–154, 1983a.

804 BACON, B. R.; TAVILL, A. S.; BRITTENHAM, G. M.; PARK, C. H.; RECKNAGEL, R. O.
 805 Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. **Journal of Clinical**
 806 **Investigation**, v. 71, n. 3, p. 429–439, 1983b.

807 BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V.
 808 P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios.
 809 **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010. DOI:
 810 <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>

811 BENEDETTI, A. L.; VITURI, C. D.; TRENTIN, A. G.; DOMINGUES, M. A. C.; ALVAREZ-
 812 SILVA, M. The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide Glyphosate-
 813 Biocarb. **Toxicology Letters**, v. 153, n. 2, p. 227–232, 2004. DOI:
 814 <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.008>

- 815 BENETOLI, L. O. B.; de SANTANA, H.; CARNEIRO, C. E. A.; ZAIA, D. A. M.; FERREIRA,
816 A. S.; PAESANO JUNIOR, A.; ZAIA, C. T. B. V. Adsorption of glyphosate in a forest soil: a
817 study using Mössbauer and FT-IR spectroscopy. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 855–859,
818 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000400017>
- 819 BEURET, C. J.; ZIRULNIK, F.; GIMÉNEZ, M. S. Effect of the herbicide glyphosate on liver
820 lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses. **Reproductive Toxicology**, v. 19, n. 4,
821 p. 501–504, 2005.
- 822 BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood
823 glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 61, p. 882–888, 1963.
- 824 BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União**
825 **Européia**. São Paulo: FFLCH - USP, 2017. Disponível em:
826 <[https://ecotoxbrasil.org.br/upload/587ed92192e9dbe77bddffd31cbe25a7-e-](https://ecotoxbrasil.org.br/upload/587ed92192e9dbe77bddffd31cbe25a7-e-book_atlas_agrot_axico_2017_larissa_bombardi.pdf)
827 [book_atlas_agrot_axico_2017_larissa_bombardi.pdf](https://ecotoxbrasil.org.br/upload/587ed92192e9dbe77bddffd31cbe25a7-e-book_atlas_agrot_axico_2017_larissa_bombardi.pdf)>. Acesso em: 14 out. 2022.
- 828 BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
829 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**,
830 v. 72, n. 1-2, p. 248–254, 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- 831 BRAKE, D. G.; EVENSON, D. P. A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on
832 mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. **Food and Chemical**
833 **Toxicology**, v. 42, p. 29–36, 2004.
- 834 BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. **Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de**
835 **julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a**
836 **embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, [...] e a fiscalização de**
837 **agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências**. Diário Oficial da
838 União: seção 1, Brasília, DF, ano 139, n. 5, p. 1–12, 8 jan. 2002. Disponível em:
839 <[https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=DEC&numero=4074&ano=2002&ato=dbd](https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=DEC&numero=4074&ano=2002&ato=dbdQTR61UNNPWTbb6)
840 [QTR61UNNPWTbb6](https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=DEC&numero=4074&ano=2002&ato=dbdQTR61UNNPWTbb6)>. Acesso em: 14 out. 2022.
- 841 BURELLA, P. M.; ODETTI, L. M.; SIMONIELLO, M. F.; POLETTA, G. L. Oxidative damage
842 and antioxidant defense in *Caiman latirostris* (Broad-snouted caiman) exposed in ovo to
843 pesticide formulations. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 437–443,
844 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.006>
- 845 ÇAGLAR, S.; KOLANKAYA, D. The effect of sub-acute and sub-chronic exposure of rats to
846 the glyphosate-based herbicide Roundup. **Environmental Toxicology and**
847 **Pharmacology**, v. 25, p. 57–62, 2008.
- 848 CAMPOS-PEREIRA, F. D.; OLIVEIRA, C. A.; PIGOSO, A. A.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.;
849 BARBIERI, R.; SPATTI, E. F.; MARIN-MORALES, M. A.; SEVERI-AGUIAR, G. D. C. Early
850 cytotoxic and genotoxic effects of atrazine on Wistar rat liver: a morphological,
851 immunohistochemical, biochemical, and molecular study. **Ecotoxicology and**
852 **Environmental Safety**, v. 78, p. 170–177, 2012. DOI:
853 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.020>
- 854 CARNEIRO, C. E. A.; IVASHITA, F. F.; SOUZA JUNIOR, I. G.; de SOUZA, C. M. D.;
855 PAESANO JR, A.; COSTA, A. C.; DI MAURO, E.; de SANTANA, H.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA,
856 D. A. M. Synthesis of goethite in solutions of artificial seawater and amino acids: a prebiotic
857 chemistry study. **International Journal of Astrobiology**, v. 12, n. 2, p. 149–160, 2013. DOI:
858 <https://doi.org/10.1017/S1473550413000013>
- 859 CATTANI, D.; CAVALLI, V. L. L. O.; RIEG, C. E. H.; DOMINGUES, J. T.; DAL-CIM, T.;
860 TASCA, C. I.; MENA BARRETO SILVA, F. R.; ZAMONER, A. Mechanisms underlying the

- neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: involvement of glutamate excitotoxicity. **Toxicology**, v. 320, p. 34–45, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.03.001>
- CHÁVEZ-PICHARDO, M. E.; REYES-BRAVO, D. Y.; MENDOZA-TREJO, M. S.; MARÍN-LÓPEZ, A. G.; GIORDANO, M.; HERNÁNDEZ-CHAN, N.; DOMÍNGUEZ-MARCHAN, K.; ORTEGA-ROSALES, L. C.; RODRÍGUEZ, V. M. Brain alterations in GABA, glutamate and glutamine markers after chronic atrazine exposure in the male albino rat. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 9, p. 3217–3230, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02806-2>
- CHILOM, C. G.; ZORILĂ, B.; BACALUM, M.; BĂLĂȘOIU, M.; YAROSLAVTSEV, R.; STOLYAR, S. V.; TYUTYUNNICOV, S. Ferrihydrite nanoparticles interaction with model lipid membranes. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 226, n. 2, art. 104851, p. 1–12, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2019.104851>
- COSTA, W. F. **Efeito protetor de antioxidantes (vitaminas C, E e beta-caroteno) e minerais (cobre, selênio e zinco) contra a ação genotóxica da doxorrubicina em células somáticas de Drosophila melanogaster**. 2005. 55p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2005.29>
- COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 2, p. 1803–1806, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.9374>
- CRUZ, L. H.; SANTANA, H.; ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. Adsorption of glyphosate on clays and soils from Paraná State: effect of pH and competitive adsorption of phosphate. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 3, p. 385–394, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000300004>
- DADFAR, S. M.; ROEMHILD, K.; DRUDE, N. I.; VON STILLFRIED, S.; KNÜCHEL, R.; KIESSLING, F.; LAMMERS, T. Iron oxide nanoparticles: diagnostic, therapeutic and theranostic applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 138, p. 302–325, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.01.005>
- DARUICH, J.; ZIRULNIK, F.; GIMENEZ, M. S. Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats on their fetuses. **Environmental Research Section**, v.85, p. 226–231, 2001.
- DJABER, N.; OUNACEUR, L. S.; MOUBINE, B. N.; KHALDI, T.; ROUAG, M.; BERROUAGUE, S.; AMARA, H.; TAIBI, F.; BOUMENDJEL, M. Roundup-induced biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of rats: the ameliorative effects of *Linum usitatissimum* oil. **Acta Biochimica Polonica**, v. 67, n. 1, p. 53–64, 2020. DOI: https://doi.org/10.18388/abp.2020_2898
- DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Management Science**, v. 64, p. 319–325, 2008.
- ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JR, V.; FEATHER-STONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88–95, 1961. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- EL-SHENAWY, N. S. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 379–385, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.06.001>

- 906 EMA. Guideline on repeated dose toxicity, 2010. European Medicines Agency. Disponível
907 em: <[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-repeated-](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-repeated-dose-toxicity-revision-1_en.pdf)
908 [dose-toxicity-revision-1_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-repeated-dose-toxicity-revision-1_en.pdf)>. Acesso em: 08 mar. 2022
- 909 FAIRBANKS, V.; BEUTLER, E. **Iron metabolism**. Beutler E, L. M., Coller BS, Kipps TJ,
910 Seligsohn U. Williams- Hematology. New York: McGraw-Hill, 2001, p. 295–304.
- 911 FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): major
912 commodities exporters, 2020. Disponível em:
913 <http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/major_commodities_exports>. Acesso em: 14 out.
914 2022.
- 915 FARIA, J. M. L.; GUIMARÃES, L. N.; SILVA, V. C.; LIMA, E. C. O.; SABÓIA-MORAIS, S.
916 M. T. Recovery trend toco-exposure of iron oxide nanoparticles (γ -Fe₂O₃) and glyphosate
917 in liver tissue of the fish *Poecilia reticulata*. **Chemosphere**, v. 282, p. 130993, 2021. DOI:
918 10.1016/j.chemosphere.2021.130993
- 919 FEDERICI, G.; SHAW, B. J.; HANDY, R. D. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to
920 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological
921 effects. **Aquatic Toxicology**, v. 84, p. 415–430, 2007. DOI:
922 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.07.009>
- 923 FERON, V. J.; CASSEE, F. R.; GROTEN, J. P.; VAN VLIET, P. W.; VAN ZORGE, J. A.
924 International issues on human health effects of exposure to chemical mixtures.
925 **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 6, p. 893–899, 2002.
- 926 FRIJHOFF, J.; WINYARD, P. G.; ZARKOVIC, N.; DAVIES, S. S.; STOCKER, R.; CHENG,
927 D.; KNIGHT, A. R.; TAYLOR, E. L.; OETTRICH, J.; RUSKOVSKA, T.; GASPAREVIC, A.
928 C.; CUADRADO, A.; WEBER, D.; POULSEN, H. E.; GRUNE, T.; SCHMIDT, H. H. H. W.;
929 GHEZZI, P. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. **Antioxidants & Redox**
930 **Signaling**, v. 23, n. 14, p. 1144–1170, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6317>
- 931 FUNKE, T.; HAN, H.; HEALY-FRIED, M. L.; FISCHER, M.; SCHÖNBRUNN, E. Molecular
932 basis for the herbicide resistance of Roundup ready crops. **Proceedings of the National**
933 **Academy Sciences**, v. 103, n. 35, p. 13010–13015, 2006.
- 934 GAHARWAR, U. S.; MEENA, R.; RAJAMANI, P. Biodistribution, clearance and
935 morphological alterations of intravenously administered iron oxide nanoparticles in male
936 Wistar rats. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 9677–9692, 2019. DOI:
937 <https://doi.org/10.2147/IJN.S223142>
- 938 GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for
939 Roundup® herbicide. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 167,
940 p. 35-120, 2000. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1156-3_2
- 941 GONÇALVES, G. M. S.; GURGEL, I. G. D.; COSTA, A. M.; DE ALMEIDA, L. R.; de LIMA
942 Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide T. F. P.; SILVA, E. Uso de
943 agrotóxicos e a relação com a saúde na etnia Xukuru do Ororubá, Pernambuco, Brasil.
944 **Saúde e Sociedade**, v. 21, n. 4, p. 1001–1012, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1590/S0104-](https://doi.org/10.1590/S0104-12902012000400017)
945 [12902012000400017](https://doi.org/10.1590/S0104-12902012000400017)
- 946 GROTO, Helena Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de**
947 **Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 08–17, 2010. Elsevier BV. DOI:
948 <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842010005000050>.
- 949 GUTIERREZ, A. M.; DZIUBLA, T. D.; HILT, J. Z. Recent advances on iron oxide magnetic
950 nanoparticles as sorbents of organic pollutants in water and wastewater treatment. **Reviews**

- 951 **on Environmental Health**, v. 32, n. 1–2, p. 111–117, 2017. DOI:
952 <https://doi.org/10.1515/reveh-2016-0063>
- 953 GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and
954 consequence. **Free Radical Research Communication**, v. 19, n. 3, p. 141–158, 1993.
955 DOI: <https://doi.org/10.3109/10715769309111598>
- 956 HAEFS, R.; SCHMITZ-EIBERGER, M.; MAINX, H. G.; MITTELSTAEDT, W.; NOGA, G.
957 Studies on a new group of biodegradable surfactants for glyphosate. **Pest Management**
958 **Science**, v. 58, p. 825–833, 2002.
- 959 HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in Biology and Medicine**. Oxford:
960 Clarendon Press, p.543, 1989.
- 961 HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo*
962 and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of**
963 **Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–255, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705776>
- 964 HAYES J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. Glutathione transferases. **Annual Review**
965 **of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 51–88, 2005. DOI:
966 <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857>
- 967 HERMES-LIMA, M., 2004. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In:
968 Storey KB (ed) *Functional metabolism: regulation and adaptation*. Wiley-Liss, Hoboken, p.
969 319-368.
- 970 HERMES-LIMA, M.; STOREY, K. B. In vitro oxidative inactivation of glutathione S-
971 transferase from a freeze tolerant reptile. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 124, n.
972 2, p. 149–158, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00929207>
- 973 HUNT, P.R. The C. elegans model in toxicity testing. **Journal of Applied Toxicology**, v.
974 37, p. 50–59, 2017.
- 975 IBAMA. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. **Instituto Brasileiro do Meio**
976 **Ambiente (IBAMA), Ministério do Meio Ambiente**, 2020. Disponível em:
977 <[http://www.ibama.gov.br/servicos/298-servicos-relatorios/servicos-relatorios-quimicos-e-](http://www.ibama.gov.br/servicos/298-servicos-relatorios/servicos-relatorios-quimicos-e-biologicos)
978 [biologicos](http://www.ibama.gov.br/servicos/298-servicos-relatorios/servicos-relatorios-quimicos-e-biologicos)>. Acesso em: 11 out. 2022.
- 979 IBAMA. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. **Instituto Brasileiro do Meio**
980 **Ambiente (IBAMA), Ministério do Meio Ambiente**, 2021. Disponível em:
981 <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>.
982 Acesso em: 08 mar. 2022.
- 983 IBAMA. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. **Instituto Brasileiro do Meio**
984 **Ambiente (IBAMA), Ministério do Meio Ambiente**, 2023. Disponível em:
985 <[https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-](https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos)
986 [informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos](https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos)>. Acesso em: 04 out.
987 2023.
- 988 IMAM, S. Z.; LANTZ-MCPEAK, S. M.; CUEVAS, E.; ROSAS-HERNANDEZ, H.;
989 LIACHENKO, S.; ZHANG, Y.; SARKAR, S.; RAMU, J.; ROBINSON, B. L.; JONES, Y.;
990 GOUGH, B.; PAULE, M. G.; ALI, S. F.; BINIENDA, Z. K. Iron oxide nanoparticles induce
991 dopaminergic damage: in vitro pathways and in vivo imaging reveals mechanism of neuronal
992 damage. **Molecular Neurobiology**, v. 52, n. 2, p. 913–926, 2015. DOI:
993 <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9259-2>
- 994 JAIN, T. K.; REDDY, M. K.; MORALES, M. A.; LESLIE-PELECKY, D. L.; LABHASETWAR,
995 V. Biodistribution, clearance, and biocompatibility of iron oxide magnetic nanoparticles in

- 996 rats. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 2, p. 316–327, 2008. DOI:
997 <https://doi.org/10.1021/mp7001285>
- 998 JAKUBCZYK, K.; DEC, K.; KAŁDUŃSKA, J.; KAWCZUGA, D.; KOCHMAN, J.; JANDA, K.
999 Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. **Polski Merkuriusz**
1000 **Lekarski**, v. 48, n. 284, p. 124–127, 2020.
- 1001 JASPER, R.; LOCATELLI, G. O.; PILATI, C.; LOCATELLI, C. Evaluation of biochemical,
1002 haematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-
1003 Roundup®. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 5, n. 3, p.133–140, 2012. DOI:
1004 <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0022-5>
- 1005 KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBI, W. B. Mechanism for the several activities of the
1006 glutathione-S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183–6188,
1007 1976. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)81842-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)81842-0)
- 1008 KIRKWOOD, R. C.; HETHERINGTON, T.; REYNOLDS, T. L.; MARSHALL, G. Absorption,
1009 localization, translocation and activity of glyphosate in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*
1010 (L.) Beauv): influence of herbicide and surfactant concentration. **Pest Management**
1011 **Science**, v. 56, p. 359–367, 2000.
- 1012 LASH, L. H. Role of glutathione transport processes in kidney function. **Toxicology and**
1013 **Applied Pharmacology**, v. 204, n. 1, p. 329–342, 2005. DOI:
1014 <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.10.004>
- 1015 LEONE, P.; GENNARI, M.; NÈGRE, M.; BOERO, V. Role of ferrihydrite in adsorption of
1016 three imidazolinone herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3,
1017 p. 1315–1320, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf000913c>
- 1018 LEVINE, R. L.; WILLIAMS, J. A.; STADTMAN, E. R.; SHACTER, E. Carbonyl assays for
1019 determination of oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 346–
1020 357, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(94\)33040-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(94)33040-9).
- 1021 LIMA, D.; MATTOS, J.J.; PIAZZA, R.S.; RIGHETTI, B.P.H.; MONTEIRO, J.S.; GROTT,
1022 S.C.; ALVES, T.C.; TANIGUCHI, S.; BÍCEGO, M.C.; DE ALMEIDA, E.A.; BEBIANNO, M.J.;
1023 MEDEIROS, I.D.; BAINY, A.C.D. Stress responses in *Crassostrea gasar* exposed to
1024 combined effects of acute pH changes and phenanthrene. **Science of The Total**
1025 **Environment**, v. 678, p. 585–593, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.04.450>
- 1027 LIMA-FARIA, J. M.; SILVA, V. C.; CHEN, L. C.; MARTINEZ, D.S.T.; SABÓIA-MORAIS,
1028 S.M.T. Co-exposure of iron oxide nanoparticles with glyphosate herbicides in *Poecilia*
1029 *reticulata*: fish liver damages are reversible during iron accumulation and elimination period.
1030 **Chemosphere**, v. 328, p. 138590, 2023. DOI:
1031 <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138590>.
- 1032 LIONETTO, M. G.; CARICATO, R.; CALISI, A.; GIORDANO, M. E.; SCHETTINO, T.
1033 Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new
1034 insights and future perspectives. **BioMed Research International**, v. 2013, article ID
1035 321213, p. 1–8, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/321213>
- 1036 LIU, W.; DU, Y.; LIU, J.; WANG, H.; SUN, D.; LIANG, D.; ZHAO, L.; SHANG, J. Effects of
1037 atrazine on the oxidative damage of kidney in Wister rats. **International Journal of Clinical**
1038 **and Experimental Medicine**, v. 7, n. 10, p. 3235–3243, 2014. Disponível em:
1039 <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4238554/pdf/ijcem0007-3235.pdf>>.
1040 Acesso em: 9 out. 2022.

- LIU, Z. Effects of surfactants on foliar uptake of herbicides – a complex scenario. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 35, n. 3–4, p. 149–153, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2004.02.016>
- LOPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p. 1–10, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.051>
- LUSHCHAK, O. V.; KUBRAK, O. I.; STOREY, J. M.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. **Chemosphere**, v. 76, p. 932–937, 2009.
- LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 13–30, 2011.
- MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. **Herbicidas: mecanismos de ação e uso**. 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2010/30295/1/doc-227.pdf>. Acesso em: 22 set 2023.
- MARRS, T. C. Organophosphate poisoning. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 58, n. 1, p. 51–56, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(93\)90066-m](https://doi.org/10.1016/0163-7258(93)90066-m)
- MAULIK, N.; McFADDEN, D.; OTANI, H.; THIRUNAVUKKARASU, M.; PARINANDI, N. L. Antioxidants in longevity and medicine. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, art. 820679, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/820679>
- MILIĆ, M.; ŽUNEC, S.; MICEK, V.; KAŠUBA, V.; MIKOLIĆ, A.; LOVAKOVIĆ, B. T.; SEMREN, T. Z.; PAVIČIĆ, I.; ČERMAK, A. M. M.; PIZENT, A.; VRDOLJAK, A. L.; VALENCIA-QUINTANA, R.; SÁNCHEZ-ALARCÓN, J.; ŽELJEŽIĆ, D. Oxidative stress, cholinesterase activity, and DNA damage in the liver, whole blood, and plasma of Wistar rats following a 28-day exposure to glyphosate. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 69, n. 2, p. 154–168, 2018. DOI: <https://doi.org/10.2478/aiht-2018-69-3114>
- MORENO, I.; PICHARDO, S.; JOS, A.; GOMEZ-AMORES, L.; MATE, A.; VAZQUEZ, C. M.; CAMEAN, A. M. Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to microcystin-LR administered intraperitoneally. **Toxicon**, v. 45, n. 4, p. 395–402, 2005.
- NAVARRO, C. D. C.; MARTINEZ, C. B. R. Effects of the surfactant polyoxyethylene amine (POEA) on genotoxic, biochemical and physiological parameters of the freshwater teleost *Prochilodus lineatus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: **Toxicology & Pharmacology**, v. 165, p. 83–90, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.06.003>.
- NICOLAS, G.; BENNOUN, M.; PORTEU, A.; MATIVET, S.; BEAUMONT, C.; GRANDCHAMP, B.; SIRITO, M.; SAWADOGO, M.; KAHN, A.; VAULONT, S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 99, n. 7, p. 4596–4601, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.072632499>
- NIKINMAA, M. **An introduction to aquatic toxicology**. 1a ed. Academic Press. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2012-0-07948-3>
- NOGUEIRA, L.; DA SILVA, D.G.H.; OLIVEIRA, T.Y.K.; DA ROSA, J.M.C.; FELÍCIO, A.A.; DE ALMEIDA, E.A. Biochemical responses in armored catfish (*Pterygoplichthys anisitsi*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends. **Chemosphere**, v. 93, p. 311–319, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2013.04.083>

- 1086 OECD. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4.** Test No. 423: Acute
1087 Oral toxicity Acute Toxic Class Method, 2001. Disponível em:
1088 <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvm/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf>. Acesso em: 08
1089 out. 2022.
- 1090 ORCELLI, T.; DI MAURO, E.; URBANO, A.; VALEZI, D. F.; DA COSTA, A. C. S.; ZAIA, C.
1091 T. B. V.; ZAIA, D. A. M. Study of interaction between glyphosate and goethite using several
1092 methodologies: an environmental perspective. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, art.
1093 150, p. 1–18, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3806-1>
- 1094 OSTROWSKI, M. C.; KISTLER, W. S. **Biochemistry**, v. 19, p. 2639, 1980.
- 1095 OWAGBORIAYE, F.; DEDEKE, G.; ADEMOLU, K.; OLUJIMI, O.; ALADESIDA, A.;
1096 ADELEKE, M. Comparative studies on endogenic stress hormones, antioxidant,
1097 biochemical and hematological status of metabolic disturbance in albino rat exposed to
1098 Roundup herbicide and its active ingredient glyphosate. **Environmental Science and**
1099 **Pollution Research**, v. 26, p. 14502–14512, 2019. DOI: [https://doi.org/10.1007/s11356-](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04759-1)
1100 019-04759-1
- 1101 PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative
1102 stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). **Environmental**
1103 **Toxicology and Pharmacology**, v. 20, p. 112–117, 2005.
- 1104 PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial
1105 oxidative phosphorylation. **Chemosphere**, v. 61, p. 1115–1122, 2005.
- 1106 PEREIRA, R. C.; ANIZELLI, P. R.; DI MAURO, E.; VALEZI, D. F.; COSTA, A. C. S.; ZAIA,
1107 C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M. The effect of pH and ionic strength on the adsorption of glyphosate
1108 onto ferrihydrite. **Geochemical Transactions**, v. 20, n. 3, p. 1–14, 2019. DOI:
1109 <https://doi.org/10.1186/s12932-019-0063-1>
- 1110 PERSSON, T.; POPESCU, B. O.; CEDAZO-MINGUEZ, A. Oxidative stress in Alzheimer's
1111 disease: why did antioxidant therapy fail? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**,
1112 2014, art. 427318, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/427318>
- 1113 PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health.
1114 **International Journal of Biomedical Science**, v. 4, p. 89–96, 2008.
- 1115 PIAZZA, R.S.; TREVISAN, R.; FLORES-NUNES, F.; TOLEDO-SILVA, G.; WENDT, N.;
1116 MATTOS, J.J.; LIMA, D.; TANIGUCHI, S.; SASAKI, S.T.; MELLO, Á.C.P.; ZACCHI, F.L.;
1117 SERRANO, M.A.S.; GOMES, C.H.A.M.; BÍCEGO, M.C.; ALMEIDA, E.A.D.; BAINY, A.C.D.
1118 Exposure to phenanthrene and depuration: changes on gene transcription, enzymatic
1119 activity and lipid peroxidation in gill of scallops *Nodipecten nodosus*. **Aquatic Toxicology**,
1120 v.177, p.146–155, 2016
- 1121 POLLEGIONI, L.; SCHONBRUNN, E.; SIEHL, D. Molecular basis of glyphosate resistance-
1122 different approaches through protein engineering. **Federation of European Biochemical**
1123 **Societies Journal**, v. 278, p. 2753–2766, 2011.
- 1124 PRABHU, K. S.; REDDY, P. V.; JONES, E. C.; LIKEN, A. D.; REDDY, C. C. Characterization
1125 of a class alpha glutathione-S-transferase with glutathione peroxidase activity in human liver
1126 microsomes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 424, n. 1, p. 72–80. 2004.
1127 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2004.02.002>
- 1128 PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria
1129 orgânica. **Revista Biociências**, v. 6, n. 2, p. 17–22, 2000.

- 1130 PROCÓPIO, S. O.; PIRES, F. R.; WERLANG, R. C.; SILVA, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.;
 1131 NEVES, A. A.; MENDONÇA, E. S.; SANTOS, J. B.; EGREJA FILHO, F. B. Sorção do
 1132 herbicida atrazine em complexos organominerais. **Planta Daninha**, v. 19, n. 3, p. 391–400,
 1133 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-8358200100030001>
 1134 (<http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/13619>)
- 1135 RAND, G. W., P.G; McCARTY, L.S. **Introduction to aquatic toxicology**. Taylor & Francis,
 1136 1995l, p. 3-70.
- 1137 RANSBERRY, V.E.; BLEWETT, T.A.; MCCLELLAND, G.B. The oxidative stress response
 1138 in freshwater-acclimated killifish (*Fundulus heteroclitus*) to acute copper and hypoxia
 1139 exposure. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology &**
 1140 **Pharmacology**, v.179, p.11–18, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2015.08.001>
- 1141 REDDY, K. N. Glyphosate-resistant soybean as a weed management tool: Opportunities
 1142 and challenges. **Weed Biology and Management**, v. 1, p. 193–202, 2001.
- 1143 RIVERA, S.; LIU, L.; NEMETH, E.; GABAYAN, V.; SORENSEN, O. E.; GANZ, T. Hepcidin
 1144 excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. **Blood**,
 1145 v. 105, n. 4, p. 1797–802, 2005.
- 1146 ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M. A.; HALL, L.; BECKIE, H.; WOLF, T. M. **Como**
 1147 **funcionam os herbicidas**: da biologia à aplicação. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier,
 1148 2007. 152 p. Disponível em:
 1149 <<https://www.embrapa.br/documents/1355291/12492345/Como+funcionam+os+herbicida>
 1150 >. Acesso em: 08 mar. 2022.
- 1151 RUAS, C. B. G.; CARVALHO, C. dos S.; DE ARAÚJO, H. S. S.; ESPÍNDOLA, E. L. G.;
 1152 FERNANDES, M. N. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species
 1153 from a metal-contaminate driver. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 1, p.
 1154 86–93, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.08.018>
- 1155 SANNINO, F.; IORIO, M.; De MARTINO, A.; PUCCI, M.; BROWN, C. D.; CAPASSO, R.
 1156 Remediation of waters contaminated with ionic herbicides by sorption on polymerin. **Water**
 1157 **Research**, v. 42, n. 3, p. 643–652, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.08.015>
- 1158 SANTA MARIA, C.; MORENO, J.; LOPEZ-CAMPOS, J. L. Hepatotoxicity induced by the
 1159 herbicide atrazine in the rat. **Journal of Applied Toxicology**, v. 7, n. 6, p. 373–378, 1987.
 1160 DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.2550070605>
- 1161 SARTER, M.; BRUNO, J. P. Cognitive functions of cortical acetylcholine: toward a unifying
 1162 hypothesis. **Brain Research Reviews**, v. 23, p. 28–46, 1997. DOI:
 1163 [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(96\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(96)00009-4)
- 1164 SCHNEIDER, C. D.; Oliveira, A. R. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of
 1165 synthesis and adaptation to the physical training. **Revista Brasileira de Medicina do**
 1166 **Esporte**, v.10, n. 4, p. 308–313, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1590/S1517-](https://doi.org/10.1590/S1517-86922004000400008)
 1167 [86922004000400008](https://doi.org/10.1590/S1517-86922004000400008)
- 1168 SCHOÜNBRUNN, E.; ESCHENBURG, S.; SHUTTLEWORTH, W. A.; SCHLOSS, J. V.;
 1169 AMRHEIN, N.; EVANS, J. N. S.; KABSCH, W. Interaction of the herbicide glyphosate with
 1170 its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail.
 1171 **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 4, p. 1376–1380, 2001.
- 1172 SCHWANDT, H.; KÖGEL-KNABNER, I.; STANJEK, H.; TOTSCHE, K. Sorption of an acidic
 1173 herbicide on synthetic iron oxides and soils: sorption isotherms. *The Science of the Total*

- 1174 Environment, v. 123-124, p. 121–131, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0048-](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90139-J)
1175 9697(92)90139-J
- 1176 SERGUTINA, A. V., RAKHMANOVA, V. I. Brain acetylcholinesterase activity in Wistar and
1177 August rats with low and high motor activity (a cytochemical study). **Bulletin of**
1178 **Experimental Biology and Medicine**, v. 157, p. 450–453, 2014. DOI:
1179 <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2588-8>
- 1180 SILVA, D.C.; SERRANO, L.; OLIVEIRA, T.M.A.; MANSANO, A.S.; ALMEIDA, E.A.; VIEIRA,
1181 E.M. Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in Nile tilapia
1182 (*Oreochromis niloticus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 162, p. 85–91, 2018.
1183 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.076>.
- 1184 SILVA, N. D. G.; CARNEIRO, C. E. A.; CAMPOS, E. V. R.; DE OLIVEIRA, J. L.; RISSO, W.
1185 E.; FRACETO, L. F.; ZAIA, D. A. M.; MARTINEZ, C. B. R. Interference of goethite in the
1186 effects of glyphosate and Roundup® on ZFL cell line. **Toxicology in Vitro**, v. 65, p. 104755,
1187 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.104755>
- 1188 SILVA, M. F.; PINEDA, E. A. G.; BERGAMASCO, R. Aplicação de óxidos de ferro
1189 nanoestruturados como adsorventes e fotocatalisadores na remoção de poluentes de
1190 águas residuais. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 393–398, 2015. DOI:
1191 <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140311>
- 1192 SINGH, N.; JENKINS, G. J. S.; ASADI, R.; DOAK, S. H. Potential toxicity of super
1193 paramagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). **Nano Reviews**, v. 1, n.1, art. 5358, p. 1–
1194 15, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3402/nano.v1i0.5358>
1195 (<https://www.tandfonline.com/loi/zano19>)
- 1196 SLANINOVA, A.; SMUTNA, M.; MADRA, H.; SVOBODOVA, Z. A review: oxidative stress in
1197 fish induced by pesticides. **Neuroendocrinology Letters**, v. 30, suppl. 1, p. 2–12, 2009.
1198 Disponível em: <<https://www.nel.edu/userfiles/articlesnew/NEL300709R01.pdf>>. Acesso
1199 em: 26 de setembro de 2023.
- 1200 SVOBODOVA, H.; KOSNÁČ, D.; TANILA, H.; WAGNER, A.; TRNKA, M.; VITOVÍČ, P.;
1201 HLINKOVA, J.; VAVRINSKY, E.; EHRLICH, H.; POLÁK, S.; KOPANI, M. Iron-oxide minerals
1202 in the human tissues. **Biometals**, v. 33, p. 1–13, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1007/s10534-](https://doi.org/10.1007/s10534-020-00232-6)
1203 020-00232-6
- 1204 TAVARES, C. R. O.; BENDASSOLLI, J. A.; RIBEIRO, D. N.; ROSSETTE, A. L. R. M.;
1205 PRESTES, C. V.; TAVARES, G. A. N-labeled glyphosate synthesis and its practical
1206 effectiveness. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 1, p. 96–101, 2010.
- 1207 TOWNSON, H. Public health impact of pesticides used in agriculture. Geneva: WHO-World
1208 Health Organization, 1990. 128 pp. Price Sw. fr. 21.00. ISBN 92-4-156139-4. **Transactions**
1209 **of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 3, p. 350, 1992. DOI:
1210 [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(92\)90345-D](https://doi.org/10.1016/0035-9203(92)90345-D)
- 1211 TRIGUEIRO, N. S. S.; GONÇALVES, B. B.; DIAS, F. C.; DE OLIVEIRA LIMA, E. C.;
1212 ROCHA, T. L.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. Co-exposure of iron oxide nanoparticles and
1213 glyphosate-based herbicide induces DNA damage and mutagenic effects in the guppy
1214 (*Poecilia reticulata*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 81, art. 103521,
1215 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103521>
- 1216 TSUTSUI, F. T. K. **Estudo da nanopartícula de ferrihidrita como protetora da**
1217 **toxicidade de herbicidas em ratos: metabólitos plasmáticos e ferro no encéfalo.**
1218 (Dissertação). Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da
1219 Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil, 2022.

- 1220 TURKMEN, R.; BIRDANE, Y. O.; DEMIREL, H. H.; YAVUZ, H.; KABU, M.; INCE, S.
 1221 Antioxidant and cytoprotective effects of N-acetylcysteine against subchronic oral
 1222 glyphosate-based herbicide-induced oxidative stress in rats. **Environmental Science and**
 1223 **Pollution Research**, v. 26, n. 11, p. 11427–11437, 2019. DOI:
 1224 <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04585-5>
- 1225 TZIN, V.; GALILI, G. New Insights into the Shikimate and Aromatic Amino Acids
 1226 Biosynthesis Pathways in Plants. **Molecular Plant**, v. 3, n. 6, p. 956–972, 2010.
- 1227 UBANI-REX, O.A.; SALIU, J.K.; BELLO, T.H. Biochemical effects of the toxic interaction of
 1228 copper, lead and cadmium on *Clarias gariepinus*. **Journal of Health and Pollution**, v. 7, p.
 1229 38–48, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5696/2156-9614-7.16.38>
- 1230 VAN BRUGGEN, A. H. C.; HE, M. M.; SHIN, K.; MAI, V.; JEONG, K. C.; FINCKH, M. R.;
 1231 MORRIS, J. G. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **Science of**
 1232 **the Total Environment**, v. 616–617, p. 255–268, 2018. DOI:
 1233 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>
- 1234 VAN OS, N. M. **Nonionic Surfactants**: organic chemistry. New York: CRC Press, 1998.
- 1235 VOLATRON, J.; CARN, F.; KOLOSNAJ-TABI, J.; JAVED, Y.; VUONG, Q. L.; GOSSUIN,
 1236 Y.; MÉNAGER, C.; LUCIANI, N.; CHARRON, G.; HÉMADI, M.; ALLOYEAU, D.; GAZEAU,
 1237 F. Ferritin protein regulates the degradation of iron oxide nanoparticles. **Nano Micro Small**,
 1238 v. 13, n. 2, p. 1–13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/sml.201602030>
- 1239 WEATHERILL, J. S.; MORRIS, K.; BOTS, P.; STAWSKI, T. M.; JANSSEN, A.;
 1240 ABRAHAMSEN, L.; BLACKHAM, R.; SHAW, S. Ferrihydrite formation: the role of Fe₁₃
 1241 Keggin clusters. **Environmental Science Technology**, v. 50, n. 17, p. 9333–9342, 2016.
 1242 DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02481>
- 1243 WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the
 1244 herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. **Regulatory**
 1245 **Toxicology and Pharmacology**, v. 31, n. 2, p. 117–165, 2000.
- 1246 WU, J.; DING, T.; SUN, J. Neurotoxic potential of iron oxide nanoparticles in the rat brain
 1247 striatum and hippocampus. **NeuroToxicology**, v. 34, p. 243–253, 2013. DOI:
 1248 <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.09.006>
- 1249 YARJANLI, Z.; GHAEDI, K.; ESMAEILI, A.; RAHGOZAR, S.; ZARRABI, A. Iron oxide
 1250 nanoparticles may damage to the neural tissue through iron accumulation, oxidative stress,
 1251 and protein aggregation. **BMC Neuroscience**, v. 18, n. 51, p. 1–12, 2017. DOI:
 1252 <https://doi.org/10.1186/s12868-017-0369-9>
- 1253 YUN, JUN-WON; KIM, SEUNG-HYUN; YOU, JI-RAN; KIM, W. H.; JANG, JA-JUNE; MIN,
 1254 SEUNG-KEE; KIM, H. C.; CHUNG, D. H.; JEONG, J.; KANG, BYEONG-CHEOL; CHE,
 1255 JEONG-HWAN. Comparative toxicity of silicon dioxide, silver and iron oxide nanoparticles after
 1256 repeated oral administration to rats. **Journal of Applied Toxicology**, v. 35, p. 681–693, 2015.
- 1257 ZHANG, Y.; HUANG, Y.; DENG, X.; XU, Y.; GAO, Z.; LI, H. Iron overload-induced rat liver
 1258 injury: Involvement of protein tyrosine nitration and the effect of baicalin. **European**
 1259 **Journal of Pharmacology**, 680, 1-3, 95–101, 2012. DOI:
 1260 <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.01.010>
- 1261 ZHU, S.; LUO, F.; ZHU, B.; WANG, G-X. Mitochondrial impairment and oxidative stress
 1262 mediated apoptosis induced by alpha-Fe₂O₃ nanoparticles in *Saccharomyces cerevisiae*,
 1263 **Toxicology Research**, v. 6, n. 5, p. 719–728, 2017. DOI:
 1264 <https://doi.org/10.1039/c7tx00123a>

12 12

ANEXO 1: Aprovação da CEUA



Universidade
Estadual de Londrina

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA N° 11/2022

Londrina, 22 de fevereiro de 2022.

Prezado (a) professor (a),

Certificamos que o projeto intitulado: **“Proteção De Nanopartículas De Óxido De Ferro Contra Estresse Oxidativo Promovido por Herbicidas: Parâmetros Plasmáticos, Teciduais E Histológicos Em Ratos”** protocolo CEUA n° 057.2021 sob a responsabilidade de Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL) no dia 22/02/2022.

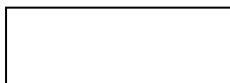
Este projeto tem por objetivo avaliar a eficácia da ferrihidrita, em proteger animais contra estresse oxidativo e danos no DNA provocados pelos herbicidas glifosato, Roundup® e atrazina. Com a administração dos herbicidas isolados ou em combinação com a ferrihidrita, pretende-se avaliar se essas substâncias: a) comprometem a ingestão alimentar e peso corpóreo, isto é, a saúde e o desenvolvimento do animal; b) interferem na atividade de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos; c) promovem dano no DNA, pela análise do cometa; d) promovem dano oxidativo tecidual, pela avaliação histológica de órgãos. **Grau de invasividade: G13.**

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa científica
Vigência da autorização	22/02/2022 a 31/12/2022
Espécie/ linhagem/ raça	Rato heterogênico/Wistar
N° de animais	162 (81 Fêmeas e 81 Machos)
Peso/ Idade	240-260
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério Central UEL
Amostras a serem coletadas	Sangue, encéfalo, fígado, rim e estômago

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Em cumprimento às exigências do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), em até 30 dias da finalização do projeto de pesquisa ou extensão envolvendo o uso de animais (verificar período de vigência expresso neste ofício), é necessário encaminhar relatório da descrição de uso de animais para ceua@uel.br, conforme modelo disponível no site da CEUA: <http://www.uel.br/comites/ceua/pages/relatorio-de-projetos.php>.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo-me, cordialmente,



Prof. Dr. Patricia Chimin Perandini
Coordenadora da CEUA/UEL

Ilmo.(a) Sr.(a)

Prof. (a) Dr. (a) Cássia Thaís Bussamra Vieira Zaia

Responsável pelo projeto

C/C para a Chefia do Departamento de Ciências Fisiológicas

C/C para a Direção do Centro de Ciências Biológicas/CCB

C/C para o Biotério Central/ CCB

Campus Universitário: Rodovia Celso Garcia Cid (PR 445), km 380 - Fone (043) 3371-4000 PABX - Fax 3328-4440 - Caixa Postal 10.011 - CEP 86057-970 - Internet <http://www.uel.br>

LONDRIANA - PARANÁ - BRASIL

12 12