



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RENATO MARCILIO ZILLI

**EFEITOS DO GLIFOSATO E ROUNDUP[®] EM ALGUNS
PARÂMETROS METABÓLICOS E NA INGESTÃO
ALIMENTAR DE RATOS**

RENATO MARCILIO ZILLI

**EFEITOS DO GLIFOSATO E ROUNDUP[®] EM ALGUNS
PARÂMETROS METABÓLICOS E NA INGESTÃO
ALIMENTAR DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia na Instituição Associada Universidade Estadual de Londrina – PR como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Cássia Thaïs B. V. Zaia

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Z69e Zilli, Renato Marcilio.

Efeitos do glifosato e Roundup® em alguns parâmetros metabólicos e na ingestão alimentar de ratos / Renato Marcilio Zilli. – Londrina, 2013.
49 f. : il.

Orientador: Cássia Thais Bussamra Vieira Zaia.

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2013.

Inclui bibliografia.

1. Metabolismo – Efeito dos herbicidas – Teses. 2. Herbicidas – Teses.
3. Rato como animal de laboratório – Teses. I. Zaia, Cássia Thais Bussamra
Vieira. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas.
Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. III. Sociedade
Brasileira de Fisiologia. IV. Título.

CDU 591.1:632.954

RENATO MARCILIO ZILLI

**EFEITOS DO GLIFOSATO E ROUNDUP[®] EM ALGUNS
PARÂMETROS METABÓLICOS E NA INGESTÃO ALIMENTAR DE
RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia na Instituição Associada Universidade Estadual de Londrina – PR como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Cláudia Bueno dos Reis Martinez
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Maria Tereza Nunes
Universidade de São Paulo – USP

Londrina, 21 de fevereiro de 2013.

*“É necessário ter o caos cá dentro
para gerar uma estrela.”*

Friedrich Nietzsche

À Deus e à Mãe de Deus, por me darem força nos momentos difíceis e a certeza de que tudo terminaria bem.

Aos meus admiráveis pais, Gilson Antônio Zilli e Sueli Antonietto Zilli; minha irmã, Letícia Gabriele Zilli; e a minha namorada, Mérili Fernandes da Costa pela confiança que depositaram em mim, pelo incentivo e pelo apoio em todas as situações.

AGRADECIMENTOS

À minha professora e orientadora Dr^a. Cássia Thaïs Bussamra Vieira Zaia, pelo apoio, pelos conhecimentos a mim transferidos e pela contribuição na elaboração do presente trabalho.

Ao Prof. Dr. Dimas Augusto Morozin Zaia, pela colaboração com este trabalho sempre que necessário, assim como pelo apoio intelectual.

De maneira especial a Pedro Henrique Trevizan Baú e Thamile Luciane Reus, pela dedicação, empenho e perseverança, na qual, proporcionou o desenvolvimento e concretização do trabalho.

A Prof^a. Dr^a. Cláudia Bueno dos Reis Martinez, por oferecer toda a infraestrutura de seu laboratório proporcionando a possibilidade de dosarmos corticosterona.

Ao Departamento de Ciências Fisiológicas pelo apoio estrutural e aos amigos presentes, de maneira especial: Ana Carolina Seidel Batista, Andressa Buseti Martins, Aryel Augusto Sartorelli Lira, Karina Maturana Pinheiro e Marcela Cristina Garnica Siqueira.

A todos os meus amigos e familiares simplesmente por existirem e me presentarem com o dom da amizade sincera e gratuita.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e à Fundação Araucária pelo auxílio financeiro.

ZILLI, R. M. **Efeitos do glifosato e Roundup® em alguns parâmetros metabólicos e na ingestão alimentar de ratos**. 2013. 49f. Dissertação (Mestrado pelo Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual de Londrina – PR.

RESUMO

O glifosato é o ingrediente ativo do Roundup®, um herbicida usado mundialmente na agricultura no combate às plantas daninhas anuais e perenes. Por mecanismo exclusivo em plantas, o herbicida inibe seu crescimento por interferência na produção de aminoácidos aromáticos essenciais. Há vários estudos, em diferentes espécies de seres vivos, sobre os efeitos tóxicos de glifosato e Roundup®, mas poucos estudos indicando efeitos no metabolismo periférico. O presente trabalho avaliou as alterações resultantes da ação do glifosato e da formulação comercial Roundup® sobre o metabolismo periférico e a ingestão alimentar de ratos machos ou fêmeas. Os ratos foram tratados por gavagem diariamente com água de torneira (grupo controle) ou 150, 300 e 600 mg/kg de glifosato ou Roundup® por 15 dias. O peso corpóreo e ingestão alimentar foram mensurados diariamente, mas não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais e controle. Nas fêmeas foram efetuados esfregaços vaginais a cada 5 dias com início no primeiro e término no último dia do protocolo experimental, onde o ciclo estral não foi alterado pelo tratamento com glifosato ou Roundup®. Valores plasmáticos de glicose, ácidos graxos livres, proteína total e parâmetros hematológicos não se alteraram quando grupos glifosato e Roundup® foram comparados aos grupos controles. Alterações normais de corticosterona plasmática foram encontradas sendo compatível com as fases do ciclo estral. A observação mais importante desse trabalho é que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na concentração plasmática de colesterol total em todas as fêmeas tratadas com Roundup®. No entanto, apenas uma tendência de alteração nas concentrações plasmáticas de colesterol total foi observada no grupo de fêmeas tratadas com doses elevadas de glifosato. Estes resultados podem ser devido à hepatotoxicidade resultante da associação do surfactante e glifosato no produto formulado. Alterações presentes apenas nas fêmeas podem ser pela maior susceptibilidade de fêmeas em comparação com ratos machos na exposição ao herbicida.

Palavras-chave: Herbicidas. Glicose. Ácidos graxos livres. Proteína total. Colesterol total. Corticosterona.

ZILLI, R. M. **Effects of glyphosate and Roundup® on some metabolic parameters and food intake of rats**. 2013. 49p. Dissertação (Mestrado pelo Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual de Londrina – PR.

ABSTRACT

Glyphosate is the active ingredient in Roundup®, an herbicide used worldwide in agriculture in the fight against annual and perennial weeds. This herbicide inhibits growth in plants by interfering with the production of essential aromatic amino acids. There are several studies, in different species of animals and even in humans, about the toxic effects of glyphosate and Roundup®, but few studies indicating effects on peripheral metabolism. This study evaluated the changes resulting from the action of glyphosate and Roundup® (the commercial formulation) on peripheral metabolism and food intake of male and female rats. Female vaginal smears were performed every 5 days starting with the first and ending on the last day of the experimental protocol, where the estrous cycle was not altered by treatment with glyphosate or Roundup®. Plasma levels of glucose, free fatty acids, total protein and hematological parameters were unchanged when glyphosate and Roundup® groups were compared to control groups. Normal changes found in corticosterone levels were compatible with the phases of the estrous cycle. The most important observation of this study is that there was a significant increase ($p < 0.05$) in plasma total cholesterol in all females treated with Roundup®. However, only a tendency of alteration in plasma concentrations of total cholesterol was observed in the group of female treated with high doses of glyphosate. These results suggest hepatotoxicity by association of surfactant and glyphosate in the formulated product. Changes only in females suggest greater susceptibility of females compared to males on the exposure to herbicide.

Keywords: Herbicides. Glucose. Free fatty acids. Total protein. Total cholesterol. Corticosterone.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Valores médios de peso corpóreo (g) de ratos machos (m) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias 25
- Tabela 2** – Valores médios da ingestão de alimentos (g/100 g de peso corpóreo) de ratos machos (m) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias 26
- Tabela 3** – Valores médios de peso corpóreo (g) de ratos fêmeas (f) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias 27
- Tabela 4** – Valores médios da ingestão de alimentos (g/100 g de peso corpóreo) de ratos fêmeas (f) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias 28
- Tabela 5** – Valores médios plasmáticos de glicose (mg/dL), ácidos graxos livres (AGL) (μ moles/dL), proteínas totais (g/dL), colesterol total (mg/dL) e corticosterona (μ g/dL) de ratos machos (m) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias 30
- Tabela 6** – Valores médios plasmáticos de glicose (mg/dL), ácidos graxos livres (AGL) (μ moles/dL), proteínas totais (g/dL), colesterol total (mg/dL), corticosterona (μ g/dL) e ciclo estral de ratos fêmeas (f) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias 31
- Tabela 7** – Valores médios do número de eritrócitos (RBC) expressa em número de células por mm³, concentração de hemoglobina expressa em gramas por decilitro e hematócrito expresso em porcentagem de ratos fêmeas (f) submetidos à injeção, por gavagem, por 15 dias, de Roundup® (R), na dose de 600 mg/kg de peso corpóreo ou água de torneira (controles; C) 33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	18
	2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
	3.1 ANIMAIS	19
	3.2 DROGAS UTILIZADAS	19
	3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS	19
	3.4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	20
	3.5 DETERMINAÇÃO DO PESO CORPÓREO E INGESTÃO ALIMENTAR	21
	3.6 ESFREGAÇO VAGINAL	21
	3.7 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS	21
	3.8 DOSAGENS BIOQUÍMICAS	22
	3.8.1 Dosagem de glicose plasmática	22
	3.8.2 Dosagem de colesterol total plasmático	22
	3.8.3 Dosagem de ácidos graxos livres plasmáticos	23
	3.8.4 Dosagem de corticosterona plasmática	23
	3.8.5 Dosagem de proteínas totais plasmáticas	24
	3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	24
4	RESULTADOS	25
5	DISCUSSÃO	34
6	CONCLUSÃO	38
7	REFERÊNCIAS	39

1. INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos à base de glifosato são produtos químicos de baixa toxicidade e extensamente utilizados na agricultura. O glifosato (N-fosfometil-glicina: $C_3H_8NO_5P$) é um herbicida não seletivo, sistêmico, pós-emergente aplicado em diversas culturas anuais e perenes, e responsável pelo controle e destruição de plantas daninhas consideradas indesejáveis na agricultura (DARUICH et al., 2001; BEURET et al., 2005; ÇAGLAR e KOLANKAYA, 2008). É considerado um dos xenobióticos mais utilizados na agricultura moderna (PEIXOTO, 2005) especialmente devido ao seu custo relativamente baixo e sua elevada eficácia (TAVARES et al., 2010).

O Roundup® é a formulação comercial do ingrediente ativo glifosato mais amplamente utilizada mundialmente (ACQUAVELLA et al., 2004); é registrado em mais de 100 países (WILLIAMS et al., 2000) para controle de plantas daninhas (REDDY, 2001) em culturas de soja, milho, canola e algodão, particularmente na Argentina, Brasil, Canadá e EUA (DUKE e POWLES, 2008). No Brasil, o Roundup® é responsável por 76% da comercialização de herbicidas (IBAMA, 2010), sendo que no período de 2000 a 2004 seu consumo apresentou aumento de 95% (LANGIANO e MARTINEZ, 2008).

O glifosato é geralmente formulado como um sal do ácido desprotonado de glifosato e um cátion isopropilamina ou trimetilsulfônico (VERECKEN, 2005), aniônico em valores fisiológicos de pH (DUKE e POWLES, 2008) e praticamente insolúvel em solventes orgânicos (PRATA et al., 2000).

O glifosato é absorvido de forma relativamente rápida através da superfície da folha (KIRKWOOD et al., 2000; PRATA e LAVORENTI, 2000) impedindo seu crescimento pela inibição competitiva da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) (BOOCOCK e COGGINS, 1983; RUBIN et al., 1984; FISCHER et al., 1986; BECERRIL et al., 1989; DUKE, 1990; SCHOÛNBRUNN et al., 2001; FUNKE et al., 2006; DUKE e POWLES, 2008), que é encontrada apenas nos microrganismos e plantas (HERRMANN, 1995); essa enzima é chave na via do ácido chiquímico para a síntese de corismato que é precursor dos aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano (GIESY et al., 2000; TZIN e GALILI, 2010; POLLEGIONI et al., 2011), e de vitaminas e lignina (BRAKE e EVENSON, 2004).

O produto principal de degradação do glifosato em plantas, solo ou água é o ácido aminometilfosfônico (AMPA), produzido por vários microrganismos que metabolizam o glifosato (RUEPPEL et al., 1977; JACOB et al., 1988; FORLANI et al., 1999;

BORGGGAARD e GIMSING, 2008; MANÃS et al., 2009a; POLLEGIONI et al., 2011). Dessa metabolização há a formação de AMPA (SINGH e WALKER, 2006) e sarcosina (LIU et al., 1991) e da degradação destes compostos (BORGGGAARD e GIMSING, 2008) ocorre a produção de dióxido de carbono, água e ácido fosfônico (ANADÓN et al., 2009).

Na composição do Roundup® além de glifosato, há a presença de ingredientes denominados inertes, dentre eles o surfactante polioxietilenoamina (POEA), que é adicionado à formulação para aumentar a eficácia do herbicida (KNOCHE e BUKOVAC, 1992; TSUI e CHU, 2003; RICHARD et al., 2005; COX e SURGAN, 2006; BENACHOUR et al., 2007), favorecendo a difusão de glifosato pela cutícula da folha (HAEFS et al., 2002; LIU, 2004).

O grau de toxicidade de herbicidas é indicado nos frascos dos agroquímicos por meio de faixas de cores distintas indicando o grau de toxicidade, sendo: Classe I – Faixa Vermelha – Extremamente tóxico, Classe II – Faixa Amarela – Altamente Tóxico, Classe III – Faixa Azul – Mediamente Tóxico e Classe IV – Faixa Verde – Pouco Tóxico. Dentre essa classificação, o glifosato recebe em sua embalagem a faixa azul, indicadora de toxicidade grau III, ou seja, mediamente tóxico (ALMEIDA, 2007; ANDEF, 2010), apresentando taxas de mortalidade de apenas 17% em casos de suicídio. Alguns estudos, no entanto, sugerem que o POEA tenha efeitos tóxicos, sendo inclusive considerado até três vezes mais tóxico que o próprio glifosato (GIESY et al., 2000).

O uso adequado, controlado e regular de herbicida é recomendado, para obter seus efeitos benéficos sem poluir o meio ambiente e sem deixar os seus resíduos em fontes de água e alimentos com potencial risco para a saúde humana (MANÃS et al., 2009b). A concentração de glifosato usado em culturas de arroz e soja no sul do Brasil varia de 0,36 a 2,16 mg/L (GLUSCZAK et al., 2007), sendo estes os valores limites de tolerância e intervalos de segurança do glifosato em alimentos, conforme estabelecidos pela ANVISA em 2001 (ANVISA, 2001 *apud* AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

A utilização de Roundup® na agricultura continua a se expandir desde meados da década de 1990 (REDDY, 2001), especialmente em aplicações que envolvam plantas geneticamente modificadas para tolerar tratamentos de glifosato (WILLIAMS et al., 2000), como por exemplo, culturas de soja, trigo, cevada, mostarda, linho, etc. (VEREECKEN, 2005; CERDEIRA e DUKE, 2006; TIMOSSI et al., 2006). Esta ampla utilização tem gerado preocupação sobre os potenciais efeitos adversos dos produtos químicos sobre o meio ambiente, podendo gerar toxicidade na condição de exposições intensas (WILLIAMS et al., 2000) com riscos à vida aquática (GIESY et al., 2000) e à saúde humana (FERON et al., 2002; LUSHCHAK et al., 2009).

O glifosato é ligado aos constituintes do solo através do radical ácido fosfônico por um mecanismo semelhante ao do fosfato inorgânico e sua inatividade é principalmente devido à formação de complexos com metais (MORILLO et al., 2000), como óxidos de ferro e alumínio (TONI et al., 2006) e matéria orgânica (PICOLLO et al., 1996). A adsorção é atribuída à formação de complexos em solução entre glifosato e cátions (GLASS, 1987) na dependência do pH (McCONNELL e HOSSNER, 1985; MILES e MOYE, 1988; JONGE e JONGE, 1999; CRUZ et al., 2007; BORGGGAARD e GIMSING, 2008) podendo persistir no solo adsorvido como resíduo ligado de forma irreversível (PRATA et al., 2005) resultando em muitos problemas ambientais (BENETOLI et al., 2010) ou lixiviar para águas subterrâneas (de SANTANA et al., 2006) comprometendo a vida aquática.

O ambiente aquático está sendo continuamente contaminado com produtos químicos tóxicos de atividades industriais, agrícolas e domésticos (BEGUM, 2004). A resposta biológica de um organismo aquático a xenobióticos após absorção e distribuição induz a alterações celulares e bioquímicas, em termos tanto estruturais, funcionais de células e tecidos como comportamentais do organismo (PARVEZ e RAISUDDIN, 2005). A meia-vida de glifosato e POEA em ambientes aquáticos, dependendo das condições do local, é relatada para variar de 7 a 14 dias e 21 a 42 dias, respectivamente (GIESY et al., 2000).

Ecossistemas aquáticos podem ser submetidos ao glifosato como uma consequência do controle de plantas daninhas em ecossistemas terrestres e massas de água. Exposição ao Roundup® promove efeitos sobre o desenvolvimento e metabolismo de crustáceos (DUTRA et al., 2011) e sapos (EDGE et al., 2011); promove alterações na atividade da superóxido dismutase, glutathione-S-transferase, glutathione reductase e glicose-6-fosfato desidrogenase em tecidos do peixe *Carassius auratus* (LUSHCHAK et al., 2009); desencadeia modificação no metabolismo energético, em processos de radicais livres e atividade da acetilcolinesterase no peixe *Rhamdia quelen* (GLUSCZAK et al., 2007); e desencadeia alterações bioquímicas, fisiológicas e histológicas em peixe *Prochilodus lineatus* induzidos por concentrações subletais do herbicida (LANGIANO e MARTINEZ, 2008).

O herbicida Roundup® favorece ainda estimulação das vias de biotransformação com redução na atividade de algumas enzimas antioxidantes e conduz à ocorrência de peroxidação lipídica em estudos realizados com peixe *Prochilodus lineatus* (MODESTO e MARTINEZ, 2010b). Afeta o crescimento e ganho de peso; inibição na atividade da acetilcolinesterase cerebral juntamente com desordens metabólicas (redução do glicogênio hepático e teores de proteína muscular; aumento de lactato no fígado e músculo) e redução nos parâmetros hematológicos em peixe *Leporinus obtusidens* (SALBEGO et al., 2010).

Efeitos como alterações hematológicas com aumento de hematócrito, aumento do número de glóbulos vermelhos e brancos foram evidenciados após 96 horas de exposição de *Prochilodus lineatus* ao Roundup®; além de inibição da acetilcolinesterase cerebral e muscular; redução da superóxido dismutase e catalase após exposição de 6 horas e glutational-S-transferase inibida nos períodos de 6 e 24 horas estando estas enzimas relacionadas com a ocorrência da peroxidação lipídica dos hepatócitos nos peixes *Prochilodus lineatus*. Os danos oxidativos foram prevenidos pela atividade aumentada das enzimas antioxidantes após 24 e 96 horas de exposição ao Roundup® Transorb (MODESTO e MARTINEZ, 2010a).

Vários estudos têm também avaliado a toxicidade de herbicidas na tentativa de associação com diferentes sintomas e patologias, tanto em rato quanto em humanos. A dose letal 50% (DL₅₀) oral de glifosato é maior que 5.000 mg/kg (WILLIAMS et al., 2000), no entanto, é possível notar vários estudos onde concentrações menores promovem diversas alterações no organismo.

Em caso de ingestão acidental de glifosato ocorre inicialmente distribuição para o intestino delgado, cólon, rins e ossos com grande parte do produto rapidamente excretado sem biotransformação na urina (BRADBERRY et al., 2004 *apud* CHANG e CHANG, 2009) corroborando estudos realizados em ratos Sprague-Dawley (BREWSTER et al., 1991). A baixa biodisponibilidade de glifosato pode ser causada por excreção biliar ou degradação do glifosato no local de absorção (ANADÓN et al., 2009). O herbicida é excretado praticamente na forma inalterada na urina devido à concentração diminuta do metabólito AMPA detectado em seres humanos (HORI et al., 2003). A severidade clínica e a taxa de mortalidade são correlacionadas com a quantidade de exposição (HSIAO et al., 2008).

A elevada ingestão de Roundup®, numa tentativa de suicídio, causa toxicidade significativa resultando em náuseas, vômitos, dor oral e abdominal, podendo ocorrer insuficiência renal e hepática e edema pulmonar (CHANG e CHANG, 2009), pancreatite aguda (HSIAO et al., 2008), choque cardiogênico, acidose metabólica severa, aumento do lactato sanguíneo e da osmolaridade plasmática com acetilcolinesterase inalterada (MALHOTRA et al., 2010). Alterações da consciência e encefalopatia têm sido relatadas como sequelas apesar de poucos serem os dados sobre efeitos do herbicida no sistema nervoso central (SNC). Manifestações gastrointestinais como náuseas, vômitos, diarreia e dores abdominais; hipotensão, taquicardia e taquipnéia foram apresentados nos casos de intoxicações menores (ROBERTS et al., 2010) e desenvolvimento neurocomportamental adverso (GARRY et al., 2002).

Associação entre mielomas múltiplos e prolongada exposição ao glifosato também são relatados (De ROOS et al., 2005). O herbicida foi associado a episódios de rinite em agricultores (SLAGER et al., 2010) e ao aumento do risco de aborto tardio (12 – 19 semanas) em mulheres residentes em regiões agrícolas de Ontário independente do momento de exposição (ARBUCKLE et al., 2001). Há poucas associações positivas relatadas suportando uma associação causal entre glifosato e doença em geral ou câncer (MINK et al., 2011; MINK et al., 2012), ou câncer de próstata (ALAVANJA et al., 2003) ou com subtipos de linfomas (ERIKSSON et al., 2008); e encontram-se alguns relatos de parkinsonismo após contaminação acidental por Roundup® (BARBOSA et al., 2001; WANG et al., 2011).

Encontram-se vários estudos na literatura sobre roedores com exposição da matriz à agrotóxicos durante a prenhez, mostrando que tanto glifosato como Roundup® podem promover: uma variedade de anormalidades funcionais na atividade específica das enzimas hepáticas, como isocitrato desidrogenase, glicose-6-fosfato desidrogenase e malato desidrogenase, dependentes da concentração de herbicida administrada (DARUICH et al., 2001); peroxidação lipídica de hepatócitos com aumento da glutathione peroxidase em fetos (BEURET et al., 2005); inclusive não dependendo da dose mas do tempo de tratamento, alteração de alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase com a presença de danos histológicos (BENEDETTI et al., 2004; HEYDENS et al., 2008) e da catalase em ratos machos (VAINIO et al., 1983).

Verifica-se ainda concentração diminuída de creatinina e glutathione reduzida; com aumento de uréia, ácido úrico, triglicerídeos, colesterol, óxido nítrico, TNF- α ; sem alterações em proteínas totais e albumina quando administrados Roundup® e glifosato intraperitonealmente por período de duas semanas (EL-SHENAWY, 2009); aumento do colesterol total e alterações das lipoproteínas (ÇAGLAR e KOLANKAYA, 2008); estresse oxidativo no fígado e cérebro de ratos (ASTIZ et al., 2009); diminuição dos hormônios sexuais (DALLEGRAVE et al., 2007; ROMANO et al., 2010); teratogenicidade (DALLEGRAVE et al., 2003); e citotoxicidade de medula óssea em camundongos (PRASAD et al., 2009).

A toxicidade do glifosato e do Roundup® é ainda confirmada em estudos *in vitro*, mostrando danos na proteína StAR (proteína reguladora da esteroidogênese) em cultivos de células testiculares de camundongos (WALSH et al., 2000), alteração na fosforilação oxidativa das mitocôndrias hepáticas tanto de ratos (PEIXOTO, 2005) como de humanos (GASNIER et al., 2009), causando redução na viabilidade celular; alteração da atividade da enzima aromatase em cultivo de células placentárias (RICHARD et al., 2005; BENACHOUR

et al., 2007) e embrionárias humanas (BENACHOUR et al., 2007); apoptose e necrose de células umbilicais, embrionárias e placentárias humanas (BENACHOUR e SÉRALINI, 2009); apoptose em células epidérmicas de humanos (ELIE-CAILLE et al., 2010); danos no ciclo celular dos embriões de invertebrados (MARC et al., 2002; MARC et al., 2004) e inibição da transcrição (MARC et al., 2005); genotoxicidade (BOLOGNESI et al., 1997; MANÃS et al., 2009a,b); mudanças no metabolismo plaquetário (NEIVA et al., 2010); e distúrbios em tecidos cardiovasculares (CHAN et al., 2007).

Deve ser ressaltado que poucos trabalhos na literatura descrevem os efeitos do glifosato ou do Roundup® sobre o metabolismo energético de ratos e humanos. O número de pessoas com doenças associadas a distúrbios metabólicos é crescente no mundo. A prevalência de obesidade é uma das grandes preocupações em termos de saúde pública hoje tanto no mundo quanto no Brasil, devido às patologias associadas, tais como, *diabetes mellitus*, dislipidemias, doenças cardiovasculares, renais e comprometimento neuronal psicológico (GHO, 2011). Em 2008, o Brasil apresentou altas taxas de obesidade, sendo que mais de 50% dos homens e mais de 46% das mulheres acima de 20 anos apresentam excesso de peso (GHO, 2011). A porcentagem de brasileiros com excesso de peso aumentou de 42,7%, em 2006, para 48,5%, em 2011, e no mesmo período, o percentual de obesos cresceu de 11,4% para 15,8% (IBGE, 2010). No entanto, existem poucos estudos em humanos ou ratos, que relacionem diferentes distúrbios metabólicos à utilização indiscriminada de herbicidas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação de glifosato e Roundup® sobre o metabolismo plasmático e comportamento alimentar de ratos machos e fêmeas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Estudar o efeito da administração de glifosato, por gavagem durante 15 dias, em ratos machos sobre o ganho de peso corpóreo e ingestão alimentar e após este procedimento avaliar concentrações de metabólitos e hormônios plasmáticos (glicose, colesterol total, ácidos graxos livres, proteínas totais e corticosterona) nesses animais.

- b) Avaliar o ganho de peso corpóreo, ingestão alimentar, e ciclo estral em ratos fêmeas durante administração de glifosato, por gavagem durante 15 dias, e após determinar as concentrações de metabólitos e hormônios plasmáticos (glicose, colesterol total, ácidos graxos livres, proteínas totais e corticosterona) nesses animais.

- c) Estudar o efeito da administração do Roundup®, por gavagem durante 15 dias, em ratos machos sobre o ganho de peso corpóreo e ingestão alimentar e após este procedimento avaliar concentrações de metabólitos e hormônios plasmáticos (glicose, colesterol total, ácidos graxos livres, proteínas totais e corticosterona) nesses animais.

- d) Avaliar o ganho de peso corpóreo, ingestão alimentar, e ciclo estral em ratos fêmeas durante administração do Roundup®, por gavagem durante 15 dias, e após determinar as concentrações de metabólitos e hormônios plasmáticos (glicose, colesterol total, ácidos graxos livres, proteínas totais e corticosterona) nesses animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os experimentos realizados neste trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Experimentação – CEUA da Universidade Estadual de Londrina (protocolo N^o. 15/2012).

3.1. ANIMAIS

Os animais utilizados foram ratos machos, adultos, da linhagem Wistar, pesando entre 220 e 250 g; e fêmeas, adultas, da linhagem Wistar, pesando entre 200 e 230 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Londrina e mantidos no Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas (CIF), em gaiolas individuais, em ambiente controlado de luz (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura (22 ± 2 °C) e recebendo alimento e água *ad libitum*. Todos os experimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia Neuroendócrina e Metabolismo (LaFiNeM) do CIF/UEL sempre no mesmo horário para minimizar qualquer influência do ritmo circadiano e ingestão alimentar.

3.2. DROGAS UTILIZADAS

As drogas utilizadas foram glifosato (N-fosfonometil-glicina: $C_3H_8NO_5P$) provenientes da (Milenia Agrociências: Londrina-PR) e Roundup® Original (Monsanto do Brasil LTDA) cuja composição é de 480 g/L de sal de isopropilamina de glifosato, 360 g/L de equivalente ácido de N-fosfonometil-glicina (glifosato) e 684 g/L de ingredientes inertes adquiridos pela (Agrotterra Implementos e Defensivos Agrícolas: Ibiporã – PR); e água de torneira que foi utilizada como controle.

3.3. GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os ratos (machos e fêmeas) constituíram 18 grupos, de 8 a 13 ratos por grupo, como segue:

- a) grupo Gm150, Gm300 e Gm600: ratos machos que receberam, por gavagem por 15 dias, o ingrediente ativo glifosato, nas doses de 150, 300 ou 600 mg/kg de peso corpóreo (b.w.), respectivamente;

- b) grupo Rm150, Rm300 e Rm600: ratos machos que receberam, por gavagem por 15 dias, o herbicida Roundup® nas doses de 150, 300 ou 600 mg/kg b.w., respectivamente;
- c) grupo Gf150, Gf300 e Gf600: ratos fêmeas que receberam, por gavagem por 15 dias, o ingrediente ativo glifosato, nas doses de 150, 300 ou 600 mg/kg b.w., respectivamente;
- d) grupo Rf150, Rf300 e Rf600: ratos fêmeas que receberam, por gavagem por 15 dias, o herbicida Roundup®, nas doses de 150, 300 ou 600 mg/kg b.w., respectivamente;
- e) grupos Cm150, Cm300 e Cm600: ratos machos que receberam, por gavagem por 15 dias, água de torneira em volumes correspondentes aos dos grupos experimentais com o glifosato ou Roundup®, e serviram de controles;
- f) grupos Cf150, Cf300 e Cf600: ratos fêmeas que receberam, por gavagem por 15 dias, água de torneira em volumes correspondentes aos dos grupos experimentais com o glifosato ou Roundup®, e serviram de controles.

3.4. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Os ratos (machos e fêmeas) receberam por gavagem, por 15 dias, sempre entre 8 e 9 h, suspensão aquosa de glifosato na dose de 150 mg/kg b.w. (grupos Gm150 e Gf150; 0,2 mL/100 g b.w.); 300 mg/kg b.w. (grupos Gm300 e Gf300; 0,2 mL/100 g b.w.); ou 600 mg/kg b.w. (grupos Gm600 e Gf600; 0,4 mL/100 g b.w. em duas doses fracionadas de 0,2 mL/100 g b.w., sendo a segunda entre 16 e 17 h); como controle (grupo C) utilizou-se água de torneira no mesmo volume e horários do glifosato. O mesmo procedimento realizou-se com a formulação comercial Roundup® tanto nos ratos machos como fêmeas. Para se obter as concentrações administradas de glifosato utilizando a formulação Roundup®, realizou-se a diluição da formulação comercial Roundup® em água de torneira, nas proporções: Rf150 = 7,8 mL de Roundup® + 42,2 mL de H₂O; Rf300 = 15,6 mL de Roundup® + 34,4 mL de H₂O; Rf600 = 15,6 mL de Roundup® + 34,4 mL de H₂O. As doses utilizadas foram as que promoveram danos no desenvolvimento de órgãos sexuais e mudanças em alguns parâmetros bioquímicos (DALLEGRAVE et al., 2007; EL-SHENAWY, 2009). Tanto o peso corpóreo quanto a ingestão alimentar foram avaliados diariamente durante todo o período experimental. No 16º dia os ratos foram decapitados (entre 8 e 9 h), sangue coletado em tubo heparinizado,

centrifugado a 3.000 r.p.m. durante 20 min e o plasma obtido armazenado em freezer (-20 °C) para posteriores dosagens bioquímicas. Nas fêmeas foram efetuados esfregaços vaginais a cada 5 dias com início no primeiro e término no último dia do protocolo experimental para associações do ciclo estral com as possíveis alterações do crescimento corporal e metabolismo periférico devido ao tratamento com os herbicidas.

3.5. DETERMINAÇÃO DO PESO CORPÓREO E INGESTÃO ALIMENTAR

O peso corpóreo de todos os ratos foi medido diariamente durante todo o período experimental e expresso em gramas. Diariamente todos os animais recebiam ração para roedores (100 g/dia; Nuvilab CR1, Nuvital®, por 15 dias), sendo as sobras retiradas após 24 h e da diferença entre a oferta e sobra de alimentos a quantidade diária de alimento ingerido foi calculada e expressa em g/100 g b.w.

3.6. ESFREGAÇO VAGINAL

Para tal, as secreções vaginais foram coletadas com o auxílio de uma pipeta Pasteur de 1 mL descartável de ponta fina (1,0 mm de diâmetro) contendo 0,2 ml de soro fisiológico 0,9%, que foi introduzida no canal vaginal na extensão de 3 mm para se evitar qualquer estimulação de gestação psicológica. Este material foi colocado em lâmina de histologia, secado em estufa a 37 °C e corado utilizando a técnica de hematoxilina-eosina para determinação da fase do ciclo estral em que se encontrava a rata. Os tipos celulares e a proporção entre eles permitiram definir a fase do ciclo estral de ratos. Um proestro consistiu principalmente de uma predominância de células epiteliais nucleadas; o estro consistiu principalmente de células cornificadas anucleadas; metaestro consistiu na mesma proporção entre leucócitos, células epiteliais cornificadas e nucleadas; e o diestro principalmente consistiu de uma predominância de leucócitos (MARCONDES et al., 2002).

3.7. PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Uma alíquota do sangue foi utilizada para a determinação do hematócrito, por microcentrifugação em tubos capilares e a hemoglobina total pelo método cianometahemoglobina num espectrofotômetro a 540 nm. O número de eritrócitos totais por

mm³ foram contados em hemocítômetro de Neubauer usando amostras de sangue fixadas em formol citrato.

3.8. DOSAGENS BIOQUÍMICAS

3.8.1. Dosagem de glicose plasmática

A determinação da concentração plasmática de glicose foi feita com o KIT comercial Glicose BioLiquid (Laborclin – PR). O KIT enzimático baseia-se na reação de Trinder (1969), onde a glicose reage com a glicose oxidase e obtêm-se produtos como o ácido glicurônico e o peróxido de hidrogênio. Posteriormente o peróxido de hidrogênio reage com o hidroxibenzoato de sódio e 4-aminofenazona com a peroxidase presente, produzindo quinoamina de coloração rósea. A coloração possui intensidade proporcional à concentração de glicose da amostra.

Os tubos de padrão e amostras foram realizados em triplicata pipetando-se 10 µL de padrão de glicose (100 mg/dL) ou amostra de plasma e adicionando-se 1 mL de reagente; no tubo considerado como branco pipetou-se somente 1 mL de reagente. Os tubos foram homogeneizados por agitação e incubados em banho-maria a 37 °C, por 10 minutos; com subsequente leitura feita em espectrofotômetro (Shimadzu Mod. UV-1201) no comprimento de onda de 500 nm. Os resultados obtidos da concentração plasmática de glicose foram expressos em mg/dL.

3.8.2. Dosagem de colesterol total plasmático

A concentração plasmática de colesterol total realizou-se com o KIT Comercial Colesterol BioLiquid (Laborclin – PR). O KIT utilizado baseia-se na reação enzimática de Allain e colaboradores (1974) onde colesterol esterase promove hidrólise dos ésteres de colesterol. O colesterol obtido nessa reação é oxidado pelo colesterol oxidase formando colest-4-en-3-ona e peróxido de hidrogênio. Este peróxido de hidrogênio produzido é avaliado por produto corado presente, originado pela reação com 4-aminofenazona e fenol na presença de peroxidase. O produto final apresenta coloração rósea e sua intensidade de cor é diretamente proporcional à quantidade de peróxido de hidrogênio originado e, conseqüentemente, à quantidade de colesterol total existente na amostra.

As dosagens foram feitas sempre em triplicatas pipetando-se no tubo 10 μ L de padrão de colesterol (200 mg/dL) ou amostra de plasma e 1 mL de reagente (no tubo branco pipetou-se apenas 1 mL de reagente). Após homogeneização, por agitação, e posterior encubação, dos tubos, em banho-maria a 37 °C por 5 minutos; fez-se leitura em espectrofotômetro (Shimadzu Mod. UV-1201) no comprimento de onda de 500 nm. Os resultados obtidos da concentração plasmática de colesterol total foram expressos em mg/dL.

3.8.3. Dosagem de ácidos graxos livres plasmáticos

A concentração de ácidos graxos livres (AGL) foi determinada utilizando-se o método espectrofotométrico de Falholt e colaboradores (1973). Foram pipetados 100 μ L de amostra de plasma de acordo com método utilizado; e como padrão, 50 μ L de uma solução, realizada por solução estoque de 2 mmol de ácido palmítico em um litro de solução extratora (clorofórmio + heptano + metanol). Adicionado neste padrão 1,0 mL de tampão fosfato (pH 6,4) e 6,0 mL de solução extratora. Os tubos foram agitados por 2 minutos e deixados em repouso durante 15 minutos sendo centrifugada durante 20 minutos a 2000 r.p.m.

A fase aquosa foi descartada e retirou-se 5,0 mL da fase inferior com transferência para outro tubo onde foram acrescentados 2,0 mL de reagente Cooper (CuTEA : pH 8,1). As amostras foram agitadas por mais 5 minutos com posterior centrifugação a 2000 r.p.m. em período de 15 minutos. Em procedimento final transferimos 3,0 mL da fase superior para outro tubo e adicionamos neste 1,0 mL do reagente de coloração (DPC: solução 4% de 1,5-difenilcarbazida e difenilcarbazona + 0,1 mL de TEA 1M). Os tubos permaneceram em repouso de 15 minutos e as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1201) no comprimento de onda de 550 nm com valores expressos em μ moles/dL.

3.8.4. Dosagem de corticosterona plasmática

A concentração de corticosterona plasmática foi determinada pelo método de Guillemín e colaboradores (1959) consistindo em método fluorimétrico, no qual, é determinada pela fluorescência da corticosterona em ácido sulfúrico, tendo-se como solução padrão 1 mg de corticosterona dissolvida em 10 mL de etanol absoluto. Foram pipetados, sempre em triplicata, 100 μ L de plasma em 3 mL de diclorometano, os tubos agitados, e realizada subsequente aspiração da fase superior possibilitando a partição e extração da corticosterona; em seguida fez-se adição, na fase inferior, de 250 μ L de NaOH 0,1 N para

lavagem, seguida por agitação e nova aspiração da fase superior; 250 µL de água destilada foram acrescentados e novamente agitados onde 2 mL da fase inferior foram retirados e transferidos para uma nova bateria de tubos. Designado como branco utilizou-se apenas 2 mL de diclorometano.

Na segunda etapa, 10 µL de solução "working" (0,5 mL de solução padrão e etanol) foram acrescentados aos tubos da solução padrão, e 0,5 mL de [H₂SO₄ : etanol] foram adicionados em todos os tubos para uma segunda extração, seguida por agitação e repouso de 20 minutos. A leitura realizou-se em fluorímetro (550 nm) e os valores obtidos da concentração plasmática de corticosterona foram expressos em µg/dL.

3.8.5. Dosagem de proteínas totais plasmáticas

Para a determinação da concentração plasmática de proteínas totais utilizou-se o KIT Comercial Proteínas Totais Doles (Doles – GO). O KIT baseia-se no reagente de biureto, sendo composto por uma solução de sulfato de cobre (0,052 M), citrato trissódico (0,57 M) e carbonato de sódio (1,05 M); albumina bovina estabilizada com azida sódica 1:1000 é utilizada como a solução padrão (4 g/dL). Para a dosagem, adicionou-se água destilada ao reagente de biureto completando-se o volume para 500 mL em balão volumétrico. A solução final de uso desse reagente apresentou a seguinte composição: citrato trissódico (0,114 M), carbonato de sódio (0,21 M) e sulfato de cobre (0,01M).

A solução utilizada desencadeia uma reação com as proteínas da amostra formando um complexo corado de cor violeta que é proporcional à concentração protéica da amostra. As dosagens foram feitas em triplicatas: em 25 µL de padrão de proteínas totais (5,31 g/dL) ou amostra de plasma nas quais foram adicionados 1,25 mL de reagente e 1 gota de hidróxido de sódio (6 M), todos os tubos, homogeneizados, por agitação, e deixados em repouso por 5 minutos; como branco utilizou-se apenas 1,25 mL de reagente. Leitura foi feita em espectrofotômetro (Shimadzu Mod. UV-1201) no comprimento de onda 550 nm. Os resultados obtidos da concentração plasmática de proteínas totais foram expressos em g/dL.

3.9. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os resultados obtidos neste estudo foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.). O teste "t" de Student foi utilizado para comparações simples. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como significantes.

4. RESULTADOS

Durante o protocolo experimental não ocorreu mortalidade nos grupos experimentais tanto de tratamento com glifosato quanto Roundup®. Este aspecto torna-se concreto devido à ausência de sinais clínicos de toxicidade mesmo nas maiores doses dos herbicidas. Não houve diferença estatística entre todos os grupos de machos (m) ou fêmeas (f) tratados com glifosato (G) ou Roundup® (R) em relação aos respectivos controles (C) tanto no ganho de peso corpóreo como na ingestão alimentar, no período de 15 dias de tratamento (Tabelas 1 a 4).

Tabela 1. Valores médios de peso corpóreo (g) de ratos machos (m) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias.

	1º (dia)	5º (dia)	10º (dia)	15º (dia)
Cm150	236,2±2,1 (8)	256,5±2,2 (8)	278,5±2,5 (8)	296,1±5,7 (8)
Cm300	248,2±1,6 (12)	262,9±2,3 (12)	278,2±2,9 (12)	297,7±3,3 (12)
Cm600	243,0±3,5 (8)	255,1±2,9 (8)	276,1±3,3 (8)	296,1±3,6 (8)
Gm150	237,1±1,8 (8)	254,4±3,7 (8)	271,0±5,5 (8)	292,1±4,4 (8)
Gm300	253,0±6,4 (8)	266,9±7,4 (8)	279,9±7,0 (8)	299,1±6,4 (8)
Gm600	243,4±3,4 (8)	257,9±3,4 (8)	276,1±4,6 (8)	295,4±4,5 (8)
Rm150	238,2±1,5 (8)	258,6±2,3 (8)	278,9±3,3 (8)	297,4±4,5 (8)
Rm300	231,2±2,7 (8)	258,9±3,8 (8)	284,2±4,1 (8)	301,9±5,2 (8)
Rm600	231,5±2,9 (8)	261,4±3,4 (8)	284,4±4,4 (8)	301,5±6,3 (8)

Valores expressos como média ± E.P.M. (): número de animais.

Tabela 2. Valores médios da ingestão de alimentos (g/100 g de peso corpóreo) de ratos machos (m) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias.

	1° (dia)	5° (dia)	10° (dia)	15° (dia)
Cm150	9,5±0,4 (8)	9,3±0,3 (8)	8,8±0,3 (8)	8,2±0,3 (8)
Cm300	8,9±0,3 (12)	8,8±0,2 (12)	8,3±0,3 (12)	8,2±0,3 (12)
Cm600	8,9±0,2 (8)	8,5±0,1 (8)	9,6±0,3 (8)	8,6±0,1 (8)
Gm150	9,5±0,4 (8)	9,5±0,4 (8)	8,3±0,3 (8)	8,4±0,2 (8)
Gm300	9,2±0,2 (8)	9,2±0,4 (8)	8,5±0,5 (8)	8,4±0,2 (8)
Gm600	9,5±0,1 (8)	9,5±0,3 (8)	9,6±0,2 (8)	8,6±0,2 (8)
Rm150	11,4±0,5 (8)	10,3±0,2 (8)	9,7±0,2 (8)	8,6±0,3 (8)
Rm300	11,1±0,3 (8)	11,4±0,2 (8)	10,4±0,2 (8)	9,1±0,2 (8)
Rm600	10,8±0,4 (8)	11,4±0,1 (8)	10,1±0,4 (8)	8,7±0,3 (8)

Valores expressos como média ± E.P.M. (): número de animais.

Tabela 3. Valores médios de peso corpóreo (g) de ratos fêmeas (f) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias.

	1° (dia)	5° (dia)	10° (dia)	15° (dia)
Cf150	211,1±4,4 (8)	214,0±5,4 (8)	220,4±5,2 (8)	228,0±4,6 (8)
Cf300	214,9±1,5 (8)	216,1±2,7 (8)	222,4±2,3 (8)	229,6±3,1 (8)
Cf600	211,8±2,0 (13)	214,0±2,5 (13)	221,5±2,8 (13)	228,9±3,1 (13)
Gf150	210,7±4,8 (8)	215,0±4,7 (8)	224,4±4,6 (8)	232,0±4,1 (8)
Gf300	206,7±1,4 (8)	215,9±1,6 (8)	223,1±1,9 (8)	233,1±2,4 (8)
Gf600	211,9±2,9 (8)	213,2±3,0 (8)	214,1±3,8 (8)	226,0±2,7 (8)
Rf150	213,2±2,8 (8)	214,2±3,7 (8)	225,0±4,1 (8)	233,9±3,8 (8)
Rf300	213,5±2,7 (8)	215,6±3,6 (8)	225,7±3,6 (8)	237,4±2,4 (8)
Rf600	215,0±1,8 (12)	219,4±1,9 (12)	226,7±2,3 (12)	235,9±2,5 (12)

Valores expressos como média ± E.P.M. (): número de animais.

Tabela 4. Valores médios da ingestão de alimentos (g/100 g de peso corpóreo) de ratos fêmeas (f) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias.

	1° (dia)	5° (dia)	10° (dia)	15° (dia)
Cf150	8,9±0,2 (8)	8,4±0,4 (8)	8,8±0,5 (8)	8,8±0,2 (8)
Cf300	8,5±0,3 (8)	9,0±0,2 (8)	7,9±0,4 (8)	8,4±0,4 (8)
Cf600	8,2±0,3 (13)	8,1±0,3 (13)	9,0±0,4 (13)	8,9±0,2 (13)
Gf150	9,5±0,4 (8)	8,4±0,5 (8)	9,7±0,3 (8)	8,4±0,3 (8)
Gf300	7,2±0,5 (8)	9,5±0,6 (8)	8,1±0,1 (8)	7,9±0,2 (8)
Gf600	9,4±0,1 (8)	9,5±0,2 (8)	7,8±1,1 (8)	9,5±0,4 (8)
Rf150	9,5±0,2 (8)	9,5±0,3 (8)	10,1±0,4 (8)	8,4±0,3 (8)
Rf300	9,4±0,2 (8)	9,9±0,3 (8)	10,2±0,4 (8)	8,9±0,3 (8)
Rf600	7,4±0,1 (12)	7,8±0,3 (12)	7,9±0,4 (12)	8,8±0,3 (12)

Valores expressos como média ± E.P.M. (): número de animais.

Os efeitos da administração diária de glifosato (G) e Roundup® (R), por 15 dias, nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg b.w., comparados aos seus respectivos grupos controles (C), sobre parâmetros plasmáticos em ratos machos (m) encontram-se na tabela 5 e em fêmeas (f) na tabela 6.

A concentração plasmática de glicose (Tabela 5) nos ratos machos tratados com glifosato nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg não diferiram dos grupos controles ($p=0,240$; $p=0,804$ e $p=0,117$; respectivamente); da mesma forma, os grupos tratados com Roundup® (Rm150, Rm300 e Rm600 mg/kg) apresentaram valores semelhantes comparados aos controles ($p=0,206$; $p=0,959$ e $p=0,138$; respectivamente).

Os ácidos graxos livres plasmáticos dos ratos machos (Tabela 5) dos grupos tratados com glifosato não diferiram dos grupos controles ($p=0,499$; $p=0,763$ e $p=0,486$; respectivamente) e apresentaram-se com valores semelhantes para os grupos tratados com Roundup® quando comparados aos controles ($p=0,603$; $p=0,672$ e $p=0,055$; respectivamente).

Verifica-se que a concentração de proteínas totais dos ratos machos (Tabela 5) dos grupos tratados com glifosato nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg não diferiram dos grupos controles ($p=0,592$; $p=0,705$ e $p=0,115$; respectivamente). O mesmo foi encontrado nos grupos tratados com Roundup® comparados aos controles ($p=0,117$; $p=0,212$ e $p=0,662$; respectivamente) como denotado na tabela 5.

Os valores plasmáticos de colesterol total (Tabela 5) foram semelhantes entre os grupos glifosato em relação aos seus controles ($p=0,055$; $p=0,540$ e $p=0,116$; respectivamente). Similarmente os ratos machos que receberam Roundup® como mostra a tabela 5, também não obtiveram diferença estatisticamente significativa quando comparados aos controles ($p=0,288$; $p=0,128$ e $p=0,346$; respectivamente).

Em relação à concentração plasmática de corticosterona nos ratos machos (Tabela 5) dos grupos tratados com glifosato nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg não diferiram dos grupos controles ($p=0,241$; $p=0,985$ e $p=0,447$; respectivamente) e também nos grupos tratados com Roundup® nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada nestes animais ($p=0,883$; $p=0,240$ e $p=0,608$; respectivamente).

Tabela 5. Valores médios plasmáticos de glicose (mg/dL), ácidos graxos livres (AGL) (μ moles/dL), proteínas totais (g/dL), colesterol total (mg/dL) e corticosterona (μ g/dL) de ratos machos (m) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias.

Grupos	Glicose (mg/dL)	AGL (μmoles/dL)	Proteínas Totais (g/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	Corticosterona (μg/dL)
Cm150	130,14 \pm 1,32 (7)	56,89 \pm 10,96 (7)	6,74 \pm 0,15 (7)	63,38 \pm 3,02 (7)	3,45 \pm 0,22 (7)
Cm300	128,65 \pm 2,43 (12)	62,06 \pm 5,19 (9)	6,59 \pm 0,18 (12)	68,96 \pm 5,44 (12)	4,34 \pm 0,59 (12)
Cm600	135,65 \pm 4,08 (7)	51,51 \pm 2,53 (7)	6,35 \pm 0,09 (8)	79,95 \pm 4,49 (8)	3,33 \pm 0,31 (8)
Gm150	127,90 \pm 1,25 (8)	65,54 \pm 6,61 (8)	6,65 \pm 0,08 (8)	74,08 \pm 3,93 (8)	4,37 \pm 0,67 (8)
Gm300	129,48 \pm 1,67 (8)	64,56 \pm 6,17 (6)	6,50 \pm 0,09 (8)	64,41 \pm 3,50 (8)	4,36 \pm 0,95 (8)
Gm600	128,48 \pm 1,83 (8)	54,76 \pm 3,61 (8)	6,69 \pm 0,19 (7)	70,07 \pm 3,83 (8)	2,87 \pm 0,50 (8)
Rm150	126,18 \pm 2,52 (8)	63,89 \pm 7,72 (8)	6,31 \pm 0,20 (8)	68,71 \pm 3,64 (8)	3,39 \pm 0,32 (8)
Rm300	128,48 \pm 1,67 (8)	64,71 \pm 2,84 (8)	6,90 \pm 0,11 (8)	80,99 \pm 4,25 (8)	3,36 \pm 0,43 (8)
Rm600	128,95 \pm 1,75 (8)	65,82 \pm 5,92 (7)	6,29 \pm 0,10 (8)	84,99 \pm 2,56 (8)	3,67 \pm 0,57 (8)

Valores expressos como média \pm E.P.M. (): número de animais.

Tabela 6. Valores médios plasmáticos de glicose (mg/dL), ácidos graxos livres (AGL) (μ moles/dL), proteínas totais (g/dL), colesterol total (mg/dL), corticosterona (μ g/dL) e ciclo estral (no 15^o dia) de ratos fêmeas (f) controles (C), glifosato (G) e Roundup® (R), na dose de 150, 300 e 600 mg/kg submetidos à gavagem por 15 dias.

Grupos	Glicose (mg/dL)	AGL (μ moles/dL)	Proteínas Totais (g/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	Corticosterona (μ g/dL)	Ciclo Estral
Cf150	134,70 \pm 6,54 (8)	42,72 \pm 4,51 (8)	6,80 \pm 0,11 (8)	66,35 \pm 3,90 (8)	6,62 \pm 1,18 (8)	E
Cf300	134,53 \pm 3,66 (8)	51,36 \pm 2,20 (7)	6,99 \pm 0,10 (8)	69,46 \pm 3,42 (8)	7,08 \pm 0,91 (8)	E
Cf600	133,29 \pm 2,86 (13)	43,68 \pm 3,16 (7)	6,55 \pm 0,13 (11)	68,75 \pm 3,70 (13)	6,10 \pm 0,86 (13)	E
Gf150	126,57 \pm 5,51 (8)	38,89 \pm 5,78 (8)	6,61 \pm 0,12 (8)	69,76 \pm 3,53 (8)	5,43 \pm 0,71 (8)	D
Gf300	126,77 \pm 2,70 (8)	47,02 \pm 4,71 (8)	6,72 \pm 0,18 (8)	71,58 \pm 1,58 (8)	4,04 \pm 0,52 [†] (8)	P
Gf600	128,79 \pm 2,45 (7)	38,44 \pm 3,95 (7)	6,80 \pm 0,17 (7)	78,75 \pm 5,08 (7)	2,89 \pm 0,54 ^{††} (7)	P
Rf150	133,88 \pm 2,82 (8)	41,28 \pm 3,56 (8)	6,94 \pm 0,12 (8)	93,98 \pm 6,35 ^{*#} (8)	8,15 \pm 1,25 (8)	E
Rf300	126,84 \pm 3,71 (8)	49,04 \pm 5,61 (8)	6,65 \pm 0,15 (6)	85,22 \pm 5,78 ^{*##} (8)	5,24 \pm 1,03 (8)	P
Rf600	134,77 \pm 2,77 (12)	45,20 \pm 2,76 (8)	6,37 \pm 0,08 (12)	89,08 \pm 6,86 ^{***} (12)	8,35 \pm 0,76 (12)	E

Valores expressos como média \pm E.P.M. (): número de animais. P: proestro; E: estro; D: diestro. * p<0,002; ** p<0,034; *** p<0,014; † p<0,012; †† p<0,019 comparados aos seus respectivos controles; # p<0,005 versus Gf150; ## p<0,039 versus Gf300.

Avaliando os resultados dos parâmetros metabólicos das fêmeas, verificamos que a concentração plasmática de glicose (Tabela 6) dos grupos tratados com glifosato nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg não diferiram dos grupos controles ($p=0,358$; $p=0,110$ e $p=0,546$; respectivamente). O mesmo é notado para os grupos tratados com Roundup® ($p=0,910$; $p=0,162$ e $p=0,714$; respectivamente) mostrado pela tabela 6.

Os ácidos graxos livres plasmáticos nos ratos fêmeas (Tabela 6) dos grupos tratados com glifosato não diferiram dos grupos controles ($p=0,610$; $p=0,441$ e $p=0,321$; respectivamente). De forma semelhante, mostraram-se os grupos tratados com Roundup® (Tabela 6) comparados aos controles ($p=0,806$; $p=0,721$ e $p=0,722$; respectivamente).

Nota-se que a concentração de proteínas totais nos ratos fêmeas (Tabela 6) dos grupos tratados com glifosato nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg não diferiram dos grupos controles ($p=0,263$; $p=0,211$ e $p=0,909$; respectivamente) da mesma forma que os grupos tratados com Roundup® em relação aos respectivos controles ($p=0,404$; $p=0,073$ e $p=0,230$).

Os valores plasmáticos de colesterol total nos ratos fêmeas (Tabela 6) foram semelhantes entre os grupos glifosato nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg em relação aos controles com as seguintes estatísticas ($p=0,527$; $p=0,678$ e $p=0,271$; respectivamente). No entanto, os valores da concentração plasmática de colesterol total (Tabela 6) dos grupos tratados com Roundup® nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg apresentaram um aumento com diferença estatisticamente significativa comparada aos seus grupos controles ($p=0,002$; $p=0,034$ e $p=0,014$; respectivamente).

Em relação à concentração plasmática de corticosterona nos ratos fêmeas (Tabela 6) dos grupos tratados com glifosato na dose de 150 mg/kg não diferiu do respectivo grupo controle ($p=0,402$), porém observa-se uma diminuição estatisticamente significativa após glifosato nas doses de 300 e 600 mg/kg ($p=0,012$ e $p=0,019$; respectivamente). Por outro lado, os grupos de ratos fêmeas (Tabela 6) que receberam Roundup® como tratamento apresentaram valores sem diferença estatisticamente significativa quando comparados com os controles ($p=0,388$ e $p=0,202$; $p=0,064$; respectivamente).

Em todos os grupos de fêmeas, o ciclo estral foi avaliado sendo determinada a fase do ciclo a cada 5 dias, entretanto, nenhuma alteração foi detectada em relação à duração de cada ciclo comparado aos controles, nem qualquer alteração quanto aos aspectos histológicos de cada fase do ciclo avaliada.

O único grupo que apresentou alguma alteração em parâmetro metabólico plasmático, avaliado no presente estudo, foi o grupo Rf600 com aumento significativo de colesterol total (Tabela 6). Portanto, na tentativa de verificar algum efeito de toxicidade nesse grupo

experimental, foram avaliados hematócrito, hemoglobina total e o número de eritrócitos totais (RBC). No entanto, não se verificou qualquer alteração significativa nos parâmetros hematológicos avaliados entre grupo experimental e seu controle (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios do número de eritrócitos (RBC) expressa em número de células por mm^3 , concentração de hemoglobina expressa em gramas por decilitro e hematócrito expresso em porcentagem de ratos fêmeas (f) submetidos à injeção, por gavagem, por 15 dias, de Roundup® (R), na dose de 600 mg/kg de peso corpóreo ou água de torneira (controles; C).

Grupos	RBC (mm^3)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)
Cf600	7,30±0,13 (5)	12,46±0,23 (5)	37,90±0,75 (5)
Rf600	7,73±0,28 (11)	12,86±0,30 (11)	40,05±0,81 (11)

Valores representados por média ± E.P.M. (): número de animais.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou os efeitos do glifosato e Roundup®, por gavagem, em ratos machos e fêmeas, nas concentrações de 150, 300 e 600 mg/kg b.w., por 15 dias.

A toxicidade pode ser avaliada quando se observa alterações no ganho diário de peso corpóreo e quantidade de alimento ingerido, além de outros aspectos clínicos como aumento de salivação, lacrimejamento, miose ou tremor (MOSER et al., 2006 *apud* ASTIZ et al., 2009). Os animais submetidos aos herbicidas não apresentaram durante todo o período experimental qualquer sinal de toxicidade e nem alteração no ganho de peso corpóreo e ingestão alimentar comparado aos seus respectivos controles (Tabelas 1 a 4). Esses dados corroboram estudos de outros autores que sugerem desenvolvimento normal dos animais sem comprometimento do controle neural de ingestão alimentar, após tratamento com glifosato, apesar dos elevados volumes injetados e consequente aumento de distensão gástrica (ASTIZ et al., 2009).

Alguns trabalhos em ratos mostraram menor ingestão acompanhada de perda de peso corpóreo atribuindo à possibilidade de menor palatabilidade promovida pelo herbicida quando adicionado à água (VANIO et al., 1983; DARUICH et al., 2001; BEURET et al., 2005) ou ao alto poder corrosivo e possibilidade de propiciar danos à mucosa oral (WILLIAMS et al., 2000), impedindo a deglutição e consequente processo de digestão do alimento. No presente estudo o procedimento de gavagem evitou tais comprometimentos, além disso, a concentração utilizada neste trabalho foi inferior aos valores destacados como letais e/ou irritativos do sistema digestório e corroboram os protocolos de outros autores utilizando glifosato ou Roundup®, tanto em machos como em fêmeas, após 1 ou 2 semanas de tratamento (EL-SHENAWY, 2009) ou 5 e 13 semanas de tratamento (ÇAGLAR e KOLANKAYA, 2008), sem observar alterações significativas no ganho de peso corpóreo e quantidade de alimento ingerido.

Em testes realizados no LaFiNeM (dados não mostrados), a administração por gavagem, de doses DL₅₀ de glifosato em ratos machos (4.200 mg/kg b.w.) e fêmeas (6.000 mg/kg b.w.) promoveram intensa diarreia e 90% dos animais morreram até o 15º dia de tratamento, e utilizando dose de 12.000 mg/kg b.w. de glifosato, considerada letal pela World Health Organization (WHO, 1994), em 5 dias todos os animais morreram devido à intensa diarreia, ausência de ingestão e consequente perda de peso corpóreo.

Avaliação de parâmetros metabólicos plasmáticos, hematológicos ou hormônios é relevante para se avaliar os efeitos de toxicidade do glifosato e Roundup®.

Aumento de glicemia e AGL são sinais metabólicos de estresse (GUEZENNEC et al., 1988; OLLER do NASCIMENTO CURI et al., 1990; ZAIA et al., 1997). Vários são os trabalhos na literatura mostrando hiperglicemia em peixes devido à contaminação da água, tanto por glifosato quanto Roundup®, sendo este aumento relacionado ao período de exposição ou concentração do herbicida (GLUSCZAK et al., 2007; LANGIANO e MARTINEZ, 2008). Até onde sabemos, não existem trabalhos avaliando esses parâmetros de estresse em roedores. Nossos resultados mostram que tanto as concentrações plasmáticas de glicose quanto de AGL de ratos machos (Tabela 5) e fêmeas (Tabela 6) tratados com glifosato ou Roundup® não diferiram dos seus respectivos grupos controles, sugerindo ausência de estresse.

São vastos os dados na literatura sobre toxicidade do glifosato e Roundup® tanto em invertebrados como vertebrados. Williams et al. (2000) faz uma revisão comparando vários estudos e mostrando diversos efeitos tanto em ratos machos e fêmeas quanto em camundongos, peixes e humanos, porém em nenhum estudo foi mostrado efeito sobre o metabolismo de glicose e AGL, exceto hiperglicemia em peixes (GLUSCZAK et al., 2007; LANGIANO e MARTINEZ, 2008). Assim, os resultados apresentados neste trabalho, vêm acrescentar informações desses herbicidas sobre esses sinalizadores de estresse.

Verifica-se que a concentração média de proteínas totais dos grupos de ratos machos (Tabela 5) ou fêmeas (Tabela 6) tratados com glifosato ou Roundup®, nas três doses utilizadas, não diferiu dos respectivos controles. Os dados obtidos nos grupos de machos corroboram os resultados obtidos por El-Shenawy (2009) que observou valores similares das proteínas totais entre controles e grupos tratados com dose de 134,95 mg/kg b.w. de glifosato ou 269,9 mg/kg b.w. de Roundup® e os presentes resultados mostram que a resposta de fêmeas para este parâmetro metabólico é semelhante após os tratamentos com os herbicidas.

O aumento de colesterol total é relatado após tratamento com glifosato por via intraperitoneal em machos (EL-SHENAWY, 2009), porém nenhuma alteração neste parâmetro foi observada nos ratos machos (Tabela 5) ou fêmeas (Tabela 6), nas diferentes doses de glifosato, comparados aos seus controles corroborando resultados obtidos por (VAINIO et al., 1983), que observou valores inalterados de colesterol nos animais tratados por gavagem com dose de 300 mg/kg b.w. de glifosato durante 2 semanas. Por outro lado, as três doses de Roundup® utilizadas nas fêmeas foram eficazes em promover aumento de colesterol total plasmático (Tabela 6), sendo esses valores médios significativamente maiores

quando comparados aos respectivos grupos controles Cf150 ($p=0,002$), Cf300 ($p=0,034$) e Cf600 ($p=0,014$). Resultados semelhantes são relatados por outros autores que observaram alterações séricas de colesterol total e lipoproteínas, sugerindo hepatotoxicidade do Roundup® nos animais (ÇAGLAR e KOLANKAYA, 2008; EL-SHENAWY, 2009), com a diminuição da atividade da proteína reguladora aguda da esteroidogênese (WALSH et al., 2000; ROMANO et al., 2010), resultando em menor metabolismo de colesterol e seu consequente aumento sérico (NING et al., 2009).

Em relação às concentrações médias plasmáticas de corticosterona, verifica-se que os grupos de machos (Tabela 5) tratados com glifosato ou Roundup® não diferiram dos grupos controles, resultado semelhante também relatado por Romano et al. (2010). Juntamente com os resultados de glicemia e AGL, esses resultados de corticosterona, que é um clássico sinalizador de estresse (OLLER do NASCIMENTO CURI et al., 1990; ZAIA et al., 1997), contribuem com a ideia de ausência de estresse promovido pelos herbicidas.

Por outro lado, avaliando a corticosteronemia dos grupos de fêmeas, apenas os grupos Gf300 e Gf600 apresentam diminuição significativa de corticosterona plasmática em relação aos respectivos controles, verificam-se ainda que essas fêmeas estavam na fase de proestro, e que as outras estavam em fase de estro, metaestro ou diestro (Tabela 6).

Sabe-se que a concentração de corticosterona plasmática se altera em situação de estresse e está na dependência da fase do ciclo estral em que se encontram ratos fêmeas. Comparando-se ciclo estral e concentração de corticosterona sérica, verifica-se que o aumento da secreção de estrógenos tem início no metaestro, atinge o pico no proestro e retorna aos valores basais no estro (CIANA et al., 2002) e que corticosterona diminui significativamente (em torno de 75% do valor médio máximo) quando estrógenos estão elevados (MORAES et al., 2012). Durante o presente estudo, foram avaliados 3 ciclos estrais de todas as fêmeas e nenhuma modificação foi constatada entre o início e o término do mesmo, diferente de Williams et al. (2000) que relata atraso do ciclo de 4,9 para 5,4 dias após tratamento com glifosato ou Roundup®. Assim, a diminuição significativa de corticosteronemia observada em dois grupos de fêmeas pode ser atribuída à fase do ciclo estral em que as mesmas se encontravam e não ao efeito do glifosato.

Alterações hematológicas são verificadas após tratamento com glifosato em roedores e humanos (WILLIAMS et al., 2000) ou Roundup® em peixes (MODESTO e MARTINEZ, 2010a). Fez-se avaliação de hematócrito, contagem de células vermelhas e dosagem de hemoglobina no único grupo que mostrou alguma alteração metabólica, que foi o grupo de fêmeas que recebeu a dose de 600 mg/kg b.w. de Roundup® (grupo Rf600), sendo esta a

maior dose de herbicida utilizada neste estudo, porém os resultados não diferiram entre controle e experimental (Tabela 7).

Doses de glifosato ou Roundup® consideradas letais promovem severa diarreia, logo no período inicial de tratamento (ÇAGLAR e KOLANKAYA, 2008) e morte subsequente por desidratação. Apesar dos vários efeitos tóxicos do glifosato e Roundup® relatados por diversos autores na literatura, as poucas alterações encontradas nesse estudo podem estar relacionadas a pouca absorção dessas substâncias pelo trato digestório (ANADÓN et al., 2009), à sua baixa toxicidade e à possível excreção nas fezes (WILLIAMS et al., 2000).

Quando injetada por meio de gavagem dose DL_{50} (dados não mostrados) de glifosato em ratos machos (4.200 mg/kg b.w.) e em ratos fêmeas (6.000 mg/kg b.w.) foi observada diarreia grave e 90% dos animais morreram até o dia 15º de tratamento. Usando a dose letal de 12.000 mg/kg b.w. de glifosato, que é considerada letal pela World Health Organization (WHO, 1994), também observamos que em 5 dias todos os animais morreram devido a diarreia grave, falta de ingestão e da perda de peso corporal (dados não mostrados).

Vários são os trabalhos na literatura sugerindo papel importante de toxicidade do surfactante POEA em peixes (GIESY et al., 2000), invertebrados e anfíbios (MOORE et al., 2012). Não fica aqui descartada a possibilidade desse componente do Roundup® ter participação nas alterações observadas nas fêmeas com relação ao aumento de colesterol total plasmático.

Apesar das doses utilizadas nesse estudo terem sido moderadas em comparação a DL_{50} de glifosato, a alteração de colesterol total presente somente nas fêmeas indica maior susceptibilidade das mesmas quando comparadas com os ratos machos na exposição ao herbicida e sugere a existência de uma dose limiar para dar início aos vários efeitos hepáticos, como relatados por outros autores (ÇAGLAR e KOLANKAYA, 2008; EL-SHENAWY, 2009; ROMANO et al., 2010; WALSH et al., 2000), citológicos (MALATESTA et al., 2008), teratogênico (DALLEGRAVE et al., 2003) e hematológicos (WILLIAMS et al., 2000).

Assim, outros estudos se tornam relevantes com aumento de doses ou período de tratamento para esclarecer os possíveis efeitos tóxicos desses herbicidas sobre parâmetros metabólicos e hormonais em ratos machos e fêmeas.

6. CONCLUSÃO

O tratamento com Roundup® ou glifosato não alterou o peso corpóreo e a ingestão alimentar, indicando o desenvolvimento normal de ratos do sexo masculino ou do sexo feminino durante o tratamento. Os níveis plasmáticos normais de glicose, ácidos graxos livres e de corticosterona indicam que não houve estresse metabólico. O tratamento com Roundup® levou a um aumento significativo na concentração de colesterol total em fêmeas, mas não nos machos. Este resultado sugere hepatotoxicidade e uma maior susceptibilidade de fêmeas ao herbicida, mas a concentração e/ou a duração do tratamento deve ser aumentada para identificar outras alterações nos substratos plasmáticos. Para melhor compreender este fato, estudos adicionais devem ser realizados para determinar os mecanismos do metabolismo hepático.

7. REFERÊNCIAS

ACQUAVELLA, J. F.; ALEXANDER, B. H.; MANDEL, J. S.; GUSTIN, C.; BAKER, B.; CHAPMAN, P.; BLEEKE, M. Glyphosate Biomonitoring for Farmers and Their Families: Results from the Farm Family Exposure Study. *Environmental Health Perspectives*, v. 112, n. 3, p. 321-326, 2004.

ALAVANJA, M. C. R.; SAMANIC, C.; DOSEMECI, M.; LUBIN, J.; TARONE, R.; LYNCH, C. F.; KNOTT, C.; THOMAS, K.; HOPPIN, J. A.; BARKER, J.; COBLE, J.; SANDLER, D. P.; BLAIR, A. Use of Agricultural Pesticides and Prostate Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort. *American Journal of Epidemiology*, v. 157, n. 9, p. 800-814, 2003.

ALLAIN, C. C.; POON, L. S.; CHAN, C. S.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.

ALMEIDA, A. Glifosato. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Portugal. 2007. Disponível em: <http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0607/glifosato/frame2.html>. Acesso em: 2 de novembro de 2011.

AMARANTE JUNIOR, O. P. de; SANTOS, T. C. R. dos.; Brito, N. M.; Ribeiro, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; MARTÍNEZ, M. A.; CASTELLANO, V. J.; MARTÍNEZ, M.; MARTIN, M. T.; NOZAL, M. J.; BERNAL, J. L. Toxicokinetics of glyphosate and its metabolite aminomethyl phosphonic acid in rats. *Toxicology Letters*, v. 190, p. 91-95, 2009.

ANDEF (Associação Nacional de Defesa Vegetal). Boas práticas agrícolas no campo. 2010. Disponível em: http://www.undef.com.br/manuais/arquivos/Manual_de_seguranca.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2012.

ARBUCKLE, T. E.; LIN, Z.; MERY, L. S. An Exploratory Analysis of the Effect of Pesticide Exposure on the Risk of Spontaneous Abortion in an Ontario Farm Population. *Environmental Health Perspectives*, v. 109, n. 8, p. 851-857, 2001.

ASTIZ, M.; ALANIZ, M. J. T.; MARRA, C. A. Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 72, p. 2025-2032, 2009.

BARBOSA, E. R.; LEIROS da COSTA, M. D.; BACHESCHI, L. A.; SCAFF, M.; LEITE, C. C. Parkinsonism after glycine-derivate exposure. *Movement Disorders*, v. 16, n. 3, p. 565-568, 2001.

BECERRIL, J. M.; DUKE, S. O.; LYDON, J. Glyphosate effects on shikimate pathway products in leaves and flowers of velvetleaf. *Phytochemistry*, v. 28, n. 3, p. 695-699, 1989.

BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (linn) and recovery response. *Aquatic Toxicology*, v. 66, p. 83-92, 2004.

BENACHOUR, N.; SÉRALINI, G. E. Glyphosate Formulations Induce Apoptosis and Necrosis in Human Umbilical, Embryonic, and Placental Cells. *Chemical Research in Toxicology*, v. 22, p. 97-105, 2009.

BENACHOUR, N.; SIPAHUTAR, H.; MOSLEMI, S.; GASNIER, C.; TRAVERT, C.; SÉRALINI, G. E. Time and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 53, p. 126-133, 2007.

BENEDETTI, A. L.; VITURI, C. D.; TRENTIN, A. G; DOMINGUES, M. A. C.; ALVAREZ-SILVA, M. The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide Glyphosate-Biocarb. *Toxicology Letters*, v. 153, n. 2, p. 227-232, 2004.

BENETOLI, L. O. de B.; SANTANA, H. de.; CARNEIRO, C. E. A.; ZAIA, D. A. M.; FERREIRA, A. S.; PAESANO JUNIOR, A.; ZAIA, C. T. B. V. Adsorption of glyphosate in a forest soil: a study using Mössbauer and FT-IR spectroscopy. *Química Nova*, v. 33, n. 4, p. 855-859, 2010.

BEURET, C. J.; ZIRULNIK, F.; GIMÉNEZ, M. S. Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses. *Reproductive Toxicology*, v. 19, n. 4, p. 501-504, 2005.

BOLOGNESI, C.; BONATTI, S.; DEGAN, P.; GALLERANI, E.; PELUSO, M.; RABBONI, R.; ROGGIERI, P.; ABBONDANDOLO, A. Genotoxic activity of glyphosate and its technical formulation Roundup. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, p. 1957-1962, 1997.

BOOCOCK, M. R.; COGGINS, J. R. Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, v. 154, n. 1, p. 127-133, 1983.

BORRGAARD, O. K.; GIMSING, A. L. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science*, v. 64, p. 441-456, 2008.

BRAKE, D. G.; EVENSON, D. P. A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. *Food and Chemical Toxicology*, v. 42, p. 29-36, 2004.

BREWSTER, D. W.; WARREN, J.; HOPKINS, W. E. Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats: Tissue distribution, identification and quantification of glyphosate derived materials following a single oral dose. *Fundamental and Applied Toxicology*, v. 17, n. 1, p. 43-51, 1991.

ÇAGLAR, S.; KOLANKAYA, D. The effect of sub-acute and sub-chronic exposure of rats to the glyphosate-based herbicide Roundup. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 25, p. 57-62, 2008.

CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O. The Current Status and Environmental Impacts of Glyphosate - Resistant Crops: A Review. *Journal of Environmental Quality*, v. 35, n. 5, p. 1633-1658, 2006.

CHAN, Y. C.; CHANG, S. C.; HSUAN, S. L.; CHIEN, M. S.; LEE, W. C.; KANG, J. J.; WANG, S. C.; LIAO, J. W. Cardiovascular effects of herbicides and formulated adjuvants on isolated rat aorta and heart. *Toxicology in Vitro*, v. 21, p. 595-603, 2007.

CHANG, CHIRN-BIN; CHANG, CHIA-CHU. Refractory cardiopulmonary failure after glyphosate surfactant intoxication: a case report. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, v. 4, n. 2, p. 1-4, 2009.

CIANA, P.; RAVISCIONI, M.; MUSSI, P.; VEGETO, E.; QUE, I.; PARKER, M. G.; LOWIK, C.; MAGGI, A. In vivo imaging of transcriptionally active estrogen receptors. *Nature Medicine*, v. 9, n. 1, p. 82-86, 2002.

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.

CRUZ, L. H.; SANTANA, H. de; 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.

DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F. D.; COELHO, R. S.; PEREIRA, J. D.; DALSENTER, P. R.; LANGELOH, A. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup® in Wistar rats. *Toxicology Letters*, v. 142, p. 45-52, 2003.

DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F. D.; OLIVEIRA, R. T.; ANDRADE, A. J. M.; DALSENTER, P. R.; LANGELOH, A. Pre and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Archives of Toxicology*, v. 81, p. 665-673, 2007.

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.

De ROOS, A. J.; BLAIR, A.; RUSIECKI, J. A.; HOPPIN, J. A.; SVEC, M.; DOSEMECI, M.; SANDLER, D. P.; ALAVANJA, M. C. Cancer Incidence among Glyphosate-Exposed Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 1, p. 49-54, 2005.

De SANTANA, H.; TONI, L. R. M.; BENETOLI, L. O. de B.; ZAIA, C. T. B. V.; ROSA JUNIOR, M.; ZAIA, D. A. M. Effect in glyphosate adsorption on clays and soils heated and characterization by FT-IR spectroscopy. *Geoderma*, v. 136, p. 738-750, 2006.

DUKE, S. O. Overview of Herbicide Mechanisms of Action. *Environmental Health Perspectives*, v. 87, p. 263-271, 1990.

DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science*, v. 64, p. 319-325, 2008.

DUTRA, B. K.; FERNANDES, F. A.; FAILACE, D. M.; OLIVEIRA, G. T. Effect of roundup (glyphosate formulation) in the energy metabolism and reproductive traits of *Hyalella castroi* (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae). *Ecotoxicology*, v. 20, p. 255-263, 2011.

EDGE, C. B.; GAHL, M. H.; PAULI, B. D.; THOMPSON, D. G.; HOULAHAN, J. E. Exposure of juvenile green frogs (*Lithobates clamitans*) in littoral enclosures to a glyphosate-based herbicide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, p. 1363-1369, 2011.

ELIE-CAILLE, C.; HEU, C.; GUYON, C.; NICOD, L. Morphological damages of a glyphosate-treated human keratinocyte cell line revealed by a micro- to nanoscale microscopic investigation. *Cell Biology and Toxicology*, v. 26, p. 331-339, 2010.

EL-SHENAWY, N. S. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 28, p. 379-385, 2009.

ERIKSSON, M.; HARDELL, L.; CARLBERG, M.; AKERMAN, M. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *International Journal of Cancer*, v. 123, p. 1657-1663, 2008.

FALHOLT, K.; LUND, B.; FALHOLT, W. An easy colorimetric micromethod for routine determination of free fatty acids in plasma. *Clinica Chimica Acta*, v. 46, n. 2, p. 105-111, 1973.

FERON, V. J.; CASSEE, F. R.; GROTEN, J. P.; VAN VLIET, P. W.; VAN ZORGE, J. A. International Issues on Human Health Effects of Exposure to Chemical Mixtures. *Environmental Health Perspectives*, v. 110, n. 6, p. 893-899, 2002.

FISCHER, R. S.; BERRY, A.; GAINES, C. G.; JENSEN, R. A. Comparative Action of Glyphosate as a Trigger of Energy Drain in Eubacteria. *Journal of Bacteriology*, v. 168, n. 3, p. 1147-1154, 1986.

FORLANI, G.; MANGIACALLI, A.; NIELSEN, E. Degradation of the phosphonate herbicide glyphosate in soil: evidence for a possible involvement of unculturable microorganism. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, n. 7, p. 991-997, 1999.

FUNKE, T.; HAN, H.; HEALY-FRIED, M. L.; FISCHER, M.; SCHÖNBRUNN, E. Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. *Proceedings of the National Academy Sciences*, v. 103, n. 35, p. 13010-13015, 2006.

GARRY, V. F.; HARKINS, M. E.; ERICKSON, L. L.; LONG-SIMPSON, L. K.; HOLLAND, S. E.; BURROUGHS, B. L. Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. *Environmental Health Perspectives*, v. 110, p. 441-449, 2002.

GASNIER, C.; DUMONT, C.; BENACHOUR, N.; CLAIR, E.; CHAGNONB, M. C.; SÉRALINI, G. E. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*, v. 262, p. 184-191, 2009.

GHO, 2011. Global Health Observatory. Overweight and obesity. World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/>. Acesso em 11 de novembro de 2012.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 167, p. 35-120, 2000.

GLASS, R. L. Adsorption of Glyphosate by Soils and Clay Minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 35, p. 497-500, 1987.

GLUSCZAK, L.; MIRON, D. dos S.; MORAES, B. S.; SIMÕES, R. R.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V. M.; LORO, V. L. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, v. 146, p. 519-524, 2007.

GUEZENNEC, C. Y.; NONGLATON, J.; SERRURIER, B.; MERINO, D.; DEFER, G. Hormonal and metabolic response to physical exercise, fasting and cold exposure in the rat. Effects on ketogenesis in isolated hepatocytes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, v. 57, n. 1, p. 114-119, 1988.

GUILLEMIN, R.; CLAYTON G. W.; LIPSCOMB, H. S.; SMITH, J. D. Fluorimetric measurement of rat plasma and adrenal corticosterone concentration. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 53, p. 830-832, 1959.

HAEFS, R.; SCHMITZ-EIBERGER, M.; MAINX, H. G.; MITTELSTAEDT, W.; NOGA, G. Studies on a new group of biodegradable surfactants for glyphosate. *Pest Management Science*, v. 58, p. 825-833, 2002.

HERRMANN, K. M. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. *The Plant Cell*, v. 7, p. 907-919, 1995.

HEYDENS, W. F.; HEALY, C. E.; HOTZ, K. J.; KIER, L. D.; MARTENS, M. A.; WILSON, A. G. E.; FARMER, D. R. Genotoxic Potential of Glyphosate Formulations: Mode-of-Action Investigations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 1517-1523, 2008.

HORI, Y.; FUJISAWA, M.; SHIMADA, K.; HIROSE, Y. Determination of the herbicide glyphosate and its metabolite in biological specimens by gas chromatography-mass spectrometry: a case of poisoning by Roundup® herbicide. *Journal of Analytical Toxicology*, v. 27, p. 162-166, 2003.

HSIAO, CHENG-TING; LIN, LENG-JYE; HSIAO, KUANG-YU; CHOU, MENG-HUA. Acute pancreatitis caused by severe glyphosate-surfactant oral intoxication. *American Journal of Emergency Medicine*, v. 26, p. 384.e3-384.e5, 2008.

IBAMA, 2010. Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009: uma abordagem ambiental. Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/produtos_agrotoxicos_comercializados_brasil_2009.pdf. Acesso em 11 de novembro de 2012.

IBGE, 2011. Índice de homens com sobrepeso quase triplica em 35 anos. 27 de agosto de 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <http://noticias.terra.com.br/brasil/noticias/0,,OI4644910-EI306,00IBGE+indice+de+homens+com+sobrepeso+quase+triplica+em+anos.html>. Acesso em 11 de novembro de 2012.

JACOB, G. S.; GARBOW, J. R.; HALLAS, L. E.; KIMACK, N. M.; KISHORE, G. M.; SCHAEFER, J. Metabolism of Glyphosate in *Pseudomonas* sp. Strain LBr. Applied and Environmental Microbiology, v. 54, n. 12, p. 2953-2958, 1988.

JONGE, de H.; JONGE, de L. W. Influence of pH and solution composition on the sorption of glyphosate and prochloraz to a sandy loam soil. Chemosphere, v. 39, n. 5, p. 753-763, 1999.

KIRKWOOD, R. C.; HETHERINGTON, T.; REYNOLDS, T. L.; MARSHALL, G. Absorption, localisation, translocation and activity of glyphosate in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv): influence of herbicide and surfactant concentration. Pest Management Science, v. 56, p. 359-367, 2000.

KNOCHE, M.; BUKOVAC, M. J. Surfactants Influence Foliar Absorption of Gibberellic Acid by Sour Cherry Leaves. Journal of the American Society for Horticultural Science, v. 117, n. 1, p. 80-84, 1992.

LANGIANO, V. do C.; MARTINEZ, C. B. R. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 147, p. 222-231, 2008.

LIU, C. M.; McLEAN, P. A.; SOOKDEO, C. C. Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. Applied and Environmental Microbiology, v. 57, n. 6, p. 1799-1804, 1991.

LIU, Z. Effects of surfactants on foliar uptake of herbicides – a complex scenario. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 35, p. 149-153, 2004.

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.

MALATESTA, M.; PERDONI, F.; SANTIN, G.; BATTISTELLI, S.; MULLER, S.; BIGGIOGERA, M. Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function. Toxicology in Vitro, v. 22, p. 1853-1860, 2008.

MALHOTRA, R. C.; GHIA, D. K.; CORDATO, D. J.; BERAN, R. G. Glyphosate-surfactant herbicide-induced reversible encephalopathy. *Journal of Clinical Neuroscience*, v. 17, p. 1472-1473, 2010.

MANÃS, F.; PERALTA, L.; RAVIOLO, J.; GARCÍA OVANDO, H.; WEYERS, A.; UGNIA, L.; GONZALEZ CID, M.; LARRIPA, I.; GORLA, N. Genotoxicity of AMPA, the environmental metabolite of glyphosate, assessed by the Comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 72, p. 834-837, 2009a.

MANÃS, F.; PERALTA, L.; RAVIOLO, J.; GARCÍA OVANDO, H.; WEYERS, A.; UGNIA, L.; GONZALEZ CID, M.; LARRIPA, I.; GORLA, N. Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 28, p. 37-41, 2009b.

MARC, J.; BRETON, M. L.; CORMIER, P.; MORALES, J.; BELLÉ, R.; MULNER-LORILLON, O. A glyphosate-based pesticide impinges on transcription. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 203, p. 1-8, 2005.

MARC, J.; MULNER-LORILLON, O.; BELLÉ, R. Glyphosate-based pesticides affect cell cycle regulation. *Biology of the Cell*, v. 96, n. 3, p. 245-249, 2004.

MARC, J.; MULNER-LORILLON, O.; BOULBEN, S.; HUREAU, D.; DURAND, G.; BELLÉ, R. Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/cyclin B activation. *Chemicals Research Toxicology*, v. 15, p. 326-331, 2002.

MARCONDES, F. K.; BIANHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*, v. 62, n. 4A, p. 609-614, 2002.

McCONNEL, J. S.; HOSSNER, L. R. pH-dependent adsorption isotherms of glyphosate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 33, p. 1075-1078, 1985.

MILES, C. J.; MOYE, H. A. Extraction of Glyphosate Herbicide from Soil and Clay Minerals and Determination of Residues in Soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 36, p. 488-491, 1988.

MINK, P. J.; MANDEL, J. S.; LUNDIN, J. I.; SCEURMAN, B. K. Epidemiologic studies of glyphosate and non-cancer health outcomes: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 61, p. 172-184, 2011.

MINK, P. J.; MANDEL, J. S.; SCEURMAN, B. K.; LUNDIN, J. I. Epidemiologic studies of glyphosate and cancer: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 63, p. 440-452, 2012.

MODESTO, K. A.; MARTINEZ, C. B. R. Effects of Roundup Transorb on fish: Hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, v. 81, p. 781-787, 2010a.

MODESTO, K. A.; MARTINEZ, C. B. R. Roundup® causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*, v. 78, p. 294-299, 2010b.

MOORE, L. J.; FUENTES, L.; RODGERS, J. H. JR.; BOWERMAN, W. W.; YARROW, G. K.; CHAO, W. Y.; BRIDGES, W. C. JR. Relative toxicity of the components of the original formulation of Roundup to five North American anurans. *Ecotoxicology Environmental Safety*, v. 78, p. 128-133, 2012.

MORAES, E.; TORRES dos SANTOS, A. A.; RIBEIRO, R. C. A.; SILVA, A. L.; ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V. Effect of pain related of sex and estrous cycle on blood plasma glucose, free fatty acids and corticosterone in rats. *Acta Scientiarum-Biology*, v. 34, n. 4, p. 451-456, 2012.

MORILLO, E.; UNDABEYTIA, T.; MAQUEDA, C.; RAMOS, A. Glyphosate adsorption on soils of different characteristics: Influence of copper addition. *Chemosphere*, v. 40, p. 103-107, 2000.

NEIVA, T. J. C.; MORAES, A. C. R.; SCHWYZER, R.; VITURI, C. L.; ROCHA, T. R. F.; FRIES, D. M.; SILVA, M. A.; BENEDETTI, A. L. In vitro effect of the herbicide glyphosate on human blood platelet aggregation and coagulation. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, n. 4, p. 291-294, 2010.

NING, Y.; XU, L.; REN, S.; PANDAK, W. M.; CHEN, S.; YIN, L. StAR overexpression decreases serum and tissue lipids in apolipoprotein E-deficient mice. *Lipids*, v. 44, n. 6, p. 511-519, 2009.

OLLER do NASCIMENTO CURI, C. M.; RIBEIRO, E. B.; ZAIA, C. T. B. V.; DOLNIKOFF, M. S. Glycemic response to stress stimulation by ether exposure in adrenalectomized rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 37, p. 399-403, 1990.

PARVEZ, S.; RAISUDDIN, S. Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 20, p. 112-117, 2005.

PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere*, v. 61, p. 1115-1122, 2005.

PICCOLO, A.; CELANO, G.; CONTE, P. Adsorption of glyphosate by humic substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 44, p. 2442-2446, 1996.

POLLEGIONI, L.; SCHONBRUNN, E.; SIEHL, D. Molecular basis of glyphosate resistance-different approaches through protein engineering. *Federation of European Biochemical Societies Journal*, v. 278, p. 2753-2766, 2011.

PRASAD, S.; SRIVASTAVA, S.; MADHULIKA SINGH, M.; SHUKLA, Y. Clastogenic Effects of Glyphosate in Bone Marrow Cells of Swiss Albino Mice. *Journal of Toxicology*, p. 1-6, 2009.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. *Revista Biociências*, v. 6, n. 2, p. 17-22, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Influência da matéria orgânica na sorção e dessorção do glifosato com diferentes atributos mineralógicos. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 24, p. 947-951, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; VEREECKEN, H.; TORNISIELO, V. L.; PELISSARI, A. Glyphosate behavior in a Rhodic Oxisol under no-till and conventional agricultural systems. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 29, p. 61-69, 2005.

REDDY, K. N. Glyphosate-resistant soybean as a weed management tool: Opportunities and challenges. *Weed Biology and Management*, v. 1, p. 193-202, 2001.

RICHARD, S.; MOSLEMI, S.; SIPAHUTAR, H.; BENACHOUR, N.; SERALINI, G. Differential effects of glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 6, p. 716-720, 2005.

ROBERTS, D. M.; BUCKLEY, N. A.; MOHAMED, F.; EDDLESTON, M.; GOLDSTEIN, D. A.; MEHRSHAIKH, A.; BLEEKE, M. S.; DAWSON, A. H. A prospective observational study of the clinical toxicology of glyphosate-containing herbicides in adults with acute self-poisoning. *Clinical Toxicology (Phila)*, v. 48, n. 2, p. 129-136, 2010.

ROMANO, R. M.; ROMANO, M. A.; FURTADO, P. V.; OLIVEIRA, C. A. Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Archives of Toxicology*, v. 84, p. 309-317, 2010.

RUBIN, J. L.; GAINES, C. G.; JENSEN, R. A. Glyphosate Inhibition of 5-Enolpyruvylshikimate 3-Phosphate Synthase from Suspension-Cultured Cells of *Nicotiana glauca*. *Plant Physiology*, v. 75, p. 839-845, 1984.

RUEPPEL, M. L.; BRIGHTWELL, B. B.; SCHAEFER, J.; MARVEL, J. T. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. *Journal Agricultural and Chemistry*, v. 25, n. 3, p. 517-528, 1977.

SALBEGO, J.; PRETTO, A.; GIODA, C. R.; MENEZES, C. C.; LAZZARI, R.; NETO, J. R.; BALDISSEROTTO, B.; LORO, V. L. Herbicide Formulation with Glyphosate Affects Growth, Acetylcholinesterase Activity, and Metabolic and Hematological Parameters in *Leptinotarsus obtusidens*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 58, p. 740-745, 2010.

SCHOÜNBRUNN, E.; ESCHENBURG, S.; SHUTTLEWORTH, W. A.; SCHLOSS, J. V.; AMRHEIN, N.; EVANS, J. N. S.; KABSCH, W. Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 98, n. 4, p. 1376-1380, 2001.

SINGH, B. K.; WALKER, A. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *Federation of European Microbiological Societies*, v. 30, p. 428-471, 2006.

SLAGER, R. E.; SIMPSON, S. L.; LEVAN, T. D.; POOLE, J. A.; SANDLER, D. P.; HOPPIN, J. A. Rhinitis Associated with Pesticide Use Among Private Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*, v. 73, n. 20, p. 1382-1393, 2010.

TAVARES, C. R. O.; BENDASSOLLI, J. A.; RIBEIRO, D. N.; ROSSETE, A. L. R. M.; PRESTES, C. V.; TAVARES, G. A. ¹⁵N-labeled glyphosate synthesis and its practical effectiveness. *Scientia Agricola*, v. 67, n. 1, p. 96-101, 2010.

TIMOSSI, P. C.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Eficácia de glyphosate em plantas de cobertura. *Planta Daninha*, v. 24, n. 3, p. 475-480, 2006.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TRINDER, P. Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Journal of Clinical Pathology*, v. 22, n. 2, p. 158-161, 1969.

TSUI, M. T.; CHU, L. M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, v. 52, p. 1189-1197, 2003.

TZIN, V.; GALILI, G. New Insights into the Shikimate and Aromatic Amino Acids Biosynthesis Pathways in Plants. *Molecular Plant*, v. 3, n. 6, p. 956-972, 2010.

VAINIO, H.; LINNAINMAA, K.; KÄHÖNEN, M.; NICKELS, J.; HIETANEN, E.; MARNIEMI, J.; PELTONEN, P. Hypolipidemia and peroxisome proliferation induced by phenoxyacetic acid herbicides in rats. *Biochemical Pharmacology*, v. 32, n. 18, p. 2775-2779, 1983.

VERECKEN, H. Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Management Science*, v. 61, p. 1139-1151, 2005.

WALSH, L. P.; McCORMICK, C.; MARTIN, C.; STOCCO, D. M. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental Health Perspectives*, v. 108, n. 8, p. 769-776, 2000.

WANG, G.; FAN, XIAO-NING; TAN, YU-YAN; CHENG, Q.; CHEN, SHENG-DI. Parkinsonism after chronic occupational exposure to glyphosate. *Parkinsonism and Related Disorders*, v. 17, p. 486-487, 2011.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 31, n. 2, p. 117-165, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1994). Glyphosate: environmental health criteria 159. International Programme on Chemical Safety-IPCS - INCHEM. Disponível em <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm#Part> Number: 2, 1994. Acesso em 30 de setembro de 2012.

ZAIA, C. T. B. V.; ZAIA, D. A. M.; DELATTRE, E.; DOLNIKOFF, M. S.; TIMO-IARIA, C. Effect of chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamic nucleus on blood plasma glucose, triglycerides and free fatty acids in rats. *Brain Research Bulletin*, v. 42, p. 195-198, 1997.