

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CAMPUS FLORIANÓPOLIS

CURSO DE FARMÁCIA

RAQUEL ARL

**Toxicidade reprodutiva do glifosato e herbicidas à base de glifosato:
uma abordagem bibliográfica**

FLORIANÓPOLIS

2021

RAQUEL ARL

**Toxicidade reprodutiva do glifosato e herbicidas à base de glifosato:
uma abordagem bibliográfica**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof.(a) Dra. Dirleise Colle.

FLORIANÓPOLIS

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Arl, Raquel

Toxicidade reprodutiva do glifosato e herbicidas à base
de glifosato: uma abordagem bibliográfica / Raquel Arl ;
orientadora, Dirleise Colle , 2021.
55 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Toxicidade reprodutiva. 3. Glifosato.
4. Herbicidas a base de glifosato. 5. Toxicologia. I. ,
Dirleise Colle. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Raquel Arl

Toxicidade reprodutiva do glifosato e herbicidas à base de glifosato: uma abordagem bibliográfica

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharel em Farmácia na Universidade Federal de Santa Catarina e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia.

Florianópolis, 14 de maio de 2021

Prof^a Dr^a Marení Rocha Farias

Coordenadora do Curso de Farmácia

Banca Examinadora:

Prof.(a) Dra. Dirleise Colle

Orientador(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Dra. Ariane Zamoner Pacheco de Souza

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Dra. Cláudia Regina dos Santos

Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado à todos que colaboraram de alguma forma para a minha graduação, principalmente aos meus queridos pais.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu gostaria de agradecer à vida, em todas as suas formas, por mostrar que a beleza está em cada detalhe da existência e por me ensinar que cada dia é uma vitória.

Aos meus pais, Cely e Valdemar, gratidão eterna por ter me proporcionado a vida e as condições necessárias para viver, por acreditarem em mim, mesmo quando eu não tinha fé, por me darem a força que me faz continuar e me faz querer ser a diferença nesse mundo cheio de adversidades, e acima de tudo por mostrarem o verdadeiro significado de amor e confiança.

À minha irmã, Miriam, que sempre foi meu exemplo, me ensinou a ter personalidade e a superar todas as dificuldades que possam me limitar, e principalmente por ser meu suporte sempre quando o caminho ficava sinuoso.

Aos amigos, Duda, Bia, Caio, Pedrinho, Helena, Janis, Japa, Del, Angel, que sempre me fortaleceram e fizeram com que a graduação fosse mais tranquila e divertida.

Aos irmãos que eu escolhi, Thay e Samuel, que estiveram ao meu lado nas maiores crises de ansiedade que me afligiram durante a graduação, sempre me deram apoio incondicional e não se limitaram em momento algum quando eu precisei de ajuda, com certeza nada seria igual sem a presença deles.

E finalmente à professora e orientadora desse projeto, Dirleise, que sempre esteve a disposição para sanar as minhas dificuldades e me deu apoio interino na escolha da temática do projeto. Desde o nosso primeiro contato nas aulas de Uroanálise que tenho muita admiração na pessoa e profissional que você é, para mim foi uma honra poder produzir esse projeto com a sua orientação. Também gostaria de agradecer a todos os docentes e profissionais da UFSC que de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica.

“Estamos correndo todo esse risco para quê? Precisamos urgentemente acabar com essas falsas garantias, com o adoçamento das amargas verdades. A população precisa decidir se deseja continuar no caminho atual, e só poderá fazê-lo quando estiver em plena posse dos fatos. Nas palavras de Jean Rostand: a obrigação de suportar nos dá o direito de saber.” (CARSON, 1962)

RESUMO

O Glifosato (N-(fosfometil)glicina), é um herbicida pós-emergente, sistêmico, não seletivo, hidrossolúvel e de amplo espectro. Pertencente à classe química dos organofosforados, não inibidor da colinesterase. Há anos que esse herbicida está na posição de agrotóxico mais consumido no mundo, sendo constituinte de mais de 750 formulações, produtos utilizados não só em aplicações agrícolas e florestais como em urbanas e residenciais. Embora o glifosato e o AMPA (principal metabólito do glifosato) sejam classificados na categoria de praticamente não tóxico e não irritante pela EPA (US Environmental Protection Agency), muitos estudos tem demonstrado efeitos tóxicos em testes realizados com Glifosato puro e herbicidas a base de glifosato (HBGs) sobre o sistema hepático e renal, sistema neurológico, sistema reprodutivo de machos e fêmeas e sistema endócrino, assim como potenciais efeitos teratogênicos e carcinogênicos. Levando em consideração os efeitos já relatados, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição ao glifosato e HBGs sobre o sistema reprodutivo de mamíferos, utilizando como metodologia uma revisão bibliográfica do tipo narrativa. Para isso foi realizado um levantamento de publicações nacionais e internacionais abordando o tema da problemática através de busca nas bases de dados Medline, via Pubmed, Scientific Electronic Library (SciELO) e Web of Science, utilizando as seguintes palavras chave e suas associações: Glifosato, Herbicidas à base de Glifosato, toxicologia e toxicidade reprodutiva. A seleção dos artigos foi realizada segundo critérios de inclusão e exclusão previamente determinados. Foram selecionados um total de 17 artigos (14 artigos da base do PubMed e 3 artigos da Web of Science). De acordo com a literatura revisada neste estudo, tanto o glifosato quanto as suas formulações comerciais parecem atuar como tóxicos reprodutivos. Efeitos deletérios foram encontrados em fêmeas e machos tratados com doses variadas do herbicida, em diferentes modelos experimentais em mamíferos. Estudos realizados *in vivo* e *in vitro* encontraram efeitos como desregulação endócrina, dano ao DNA, alteração na morfologia de gametas femininos e masculinos, redução na motilidade e concentração dos espermatozoides, assim como estresse oxidativo e disfunção na

gametogênese. Embora muitos efeitos já estejam bem elucidados, mais estudos são necessários para esclarecer os efeitos do glifosato na saúde reprodutiva humana.

Palavras chave: glifosato, herbicidas à base de glifosato, toxicologia e toxicidade reprodutiva.

ABSTRACT

Glyphosate (N- (phosphonomethyl) glycine), is a post-emergent, systemic, non-selective, water-soluble and broad-spectrum herbicide. Belonging to the chemical class of organophosphates, not cholinesterase inhibitor. This herbicide has been in the position of the most consumed pesticide in the world for years, being a constituent of more than 750 formulations, products used not only in agricultural and forestry applications, but also in urban and residential ones. Although glyphosate and AMPA (the main glyphosate metabolite) are classified as practically non-toxic and non-irritating by the EPA (*US Environmental Protection Agency*), many studies have shown toxic effects in tests performed with pure glyphosate and glyphosate-based herbicides. (GBHs) on the liver and kidney system, neurological system, male and female reproductive system and endocrine system, as well as potential teratogenic and carcinogenic effects. Taking into consideration the effects already reported, the present study aims to evaluate the effects of exposure to glyphosate and GBHs on the reproductive system of mammals, using as methodology a bibliographic review of the narrative type. To this end, a survey of national and international publications addressing the issue of the problem was carried out by searching the databases Medline, by Pubmed, Scientific Electronic Library (SciELO) and Web of Science, using the following keywords and their associations: Glyphosate, Glyphosate-based herbicides, toxicology and reproductive toxicity. The selection of articles was carried out according to the inclusion and exclusion criteria. A total of 17 articles were selected (14 articles from the PubMed database and 3 articles from the Web of Science). According to the literature reviewed in this article, both glyphosate and its commercial formulations appear to act as reproductive toxicants. Studies carried out *in vivo* and *in vitro* found effects such as endocrine disruption, DNA damage, changes in the morphology of female and male gametes, reduced motility and concentration of sperm, as well as oxidative stress and dysfunction in gametogenesis. Although many effects are well understood, further studies are necessary to clarify the effects of glyphosate on human reproductive health.

Keywords: glyphosate, glyphosate-based herbicides, toxicology and reproductive toxicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Consumo de agrotóxicos e afins no Brasil no período de 2000 a 2018.....	19
Figura 2 – Total de agrotóxicos registrados por ano no Brasil.....	20
Figura 3 – Número de casos de Intoxicação por Agrotóxico de Uso Agrícola registrados por ano no Brasil.....	22
Figura 4 – Fórmula estrutural do Glifosato.....	23
Figura 5 – Principais metabólitos do Glifosato.....	25

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Dados dos artigos selecionados e os principais efeitos deletérios encontrados no sistema reprodutivo de machos	35
Quadro 2 – Dados dos artigos selecionados e os principais efeitos deletérios encontrados no sistema reprodutivo de fêmeas.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Os 10 ingredientes ativos mais vendidos no Brasil no ano de 2019.....21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AENDA	- Associação brasileira de defensivos pós patente
CAT	- Catalase
CETESB	- Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CIATs	- Centros de Informação e Assistência Toxicológica
CIATOX/SC	- Centro de Informação e Assistência Toxicológica de Santa Catarina
CODEX	- <i>Codex Alimentarius</i>
DDT	- Diclorodifeniltricloroetano
DG	- Dia gestacional
DL	- Dose letal
DPN	- Dia pós-natal
DPP	- Dia pós-parto
EDSP	- <i>Endocrine Disruptor Screening Program</i>
EPA	- US Environmental Protection Agency
EPSPS	- 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase
ER α	- Receptor de estrogênio alpha
FSH	- Hormônio folículo-estimulante
GnRH	- Hormônio liberador de gonadotrofinas
GPx	- Glutaciona peroxidase
GSH	- Glutaciona
GVBD	- Quebra da Vesícula germinativa
HBG	- Herbicidas a base de Glifosato
IARC	- Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
IBAMA	- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais.

IPA	- Isopropilamina
LDH	- Lactato desidrogenase
LH	- Hormônio luteinizante
LHRH	- Hormônio liberador do hormônio luteinizante
L-VDCC	- Canal de cálcio dependente da voltagem tipo L
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA	- Malondialdeído
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PBE	- Primeira extrusão de corpo polar
POEA	- Polioxietilenoamina
SciELO	- Scientific Electronic Library
SINDAG	- Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola
SINITOX	- Sistema nacional de informações toxico-farmacológicas
SOD	- Superóxido dismutase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Agrotóxicos.....	16
1.2 Glifosato.....	22
2. OBJETIVOS	29
3. JUSTIFICATIVA	30
4. METODOLOGIA	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1 Toxicidade do glifosato e HBGs no sistema reprodutivo de machos.....	34
5.2 Toxicidade do glifosato e HBGs no sistema reprodutivo de fêmeas.....	44
6. CONCLUSÃO.....	50
7. REFERÊNCIAS.....	51

1. Introdução

1.1 Agrotóxicos

Agrotóxicos são um grupo de substâncias químicas utilizadas principalmente pela agroindústria para facilitar e aumentar a produção de alimentos. Embora a utilização desses componentes químicos cumpra o seu papel no aumento da produção agrícola o seu uso intensivo gera muitas consequências negativas. Os impactos na saúde humana mais relatados na literatura científica vão desde náuseas, dores de cabeça e irritações na pele, até problemas crônicos mais sérios, como diabetes, malformações congênitas e vários tipos de neoplasias que podem levar inclusive a óbito. Impactos ambientais também são muito evidentes e podem levar aos problemas relacionados à saúde de seres vivos por consumo indireto devido à contaminação de água, plantas e solo (FRACALOSI DE MORAES, 2019).

Segundo a lei número 7.802 (BRASIL,1989, p. 11459) e o decreto que a regulamenta (BRASIL,2002, p.1) os agrotóxicos são considerados:

“os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento.”

Além da definição em termos de legislação a FAO (*Food and Agriculture Organization*) responsável pelas áreas de agricultura e alimentação define esse grupo de componentes como: “Qualquer substância ou mistura de substâncias de ingredientes químicos ou biológicos destinados a repelir, destruir ou controlar qualquer praga ou regular o crescimento das plantas” (PERES et al., 2003). Sendo assim, a própria definição do termo já o coloca em uma posição de veneno, e não só prejudicial para as plantas, mas também prejudicial para a saúde humana.

Os agrotóxicos são também classificados de acordo com o tipo de praga que controlam: inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas

(controle de plantas invasoras), desfolhantes (controle de folhas indesejadas), fumigantes (controle de bactérias do solo), raticidas (controle de ratos), nematicidas (controle de nematoides), molusquicidas (controle de moluscos) e acaricidas (controle de ácaros) (ALMEIDA et al., 1985).

Os primeiros registros do uso de substâncias com a finalidade inseticida foram a mais de mil anos atrás com a utilização do sulfeto de arsênio, na China (LONDRES, 2011; MAZOYER; ROUDART, 2009). O primeiro agrotóxico desenvolvido foi o DDT (diclorodifeniltricloroetano) em 1874 por Othomar Zeidler, porém apenas em 1939 essa substância foi reconhecida como inseticida. Essa descoberta fez com que Paul Muller ganhasse um prêmio nobel em 1948 (CARSON, 2010). O composto era utilizado em larga escala para deter o inseto vetor da malária.

A bióloga Rachel Carson denunciou em seu livro “primavera silenciosa”, em 1962, os efeitos nocivos do uso de uma forma de produção que para ela se comparava à tecnologia armamentista, visto que devido aos riscos para a saúde humana poderia ser considerada uma arma química. O livro se baseava na observação de como um produto destinado para matar insetos específicos acabava matando diversas outras espécies animais, inclusive as domésticas, além do acúmulo do produto no corpo humano com o uso a longo prazo (CARNEIRO, 2012).

“O veneno também pode ser transmitido da mãe para os filhos. Foram encontrados resíduos de inseticida no leite humano em amostras testadas pelos cientistas da FDA. Isso significa que os bebês alimentados no peito estão recebendo acréscimos pequenos mas regulares à carga de substâncias químicas tóxicas que se acumulam em seu corpo. Esta não é, de forma alguma, sua primeira exposição, contudo: há bons motivos para se acreditar que a exposição se inicie quando o bebê ainda está no útero [...] Essa situação significa também que, atualmente, é quase certo que o indivíduo médio comece a vida já com um primeiro depósito da carga cada vez maior de produtos químicos que seu corpo será obrigado a carregar daí em diante.” (CARSON, 2010, p. 35)

Seu estudo era baseado na cadeia ecológica, as pesquisas acerca dos agrotóxicos eram realizadas de forma muito precária (CARSON, 2010), se preocupando apenas com controle dos mosquitos e pragas, porém se o inseto era afetado pelo veneno o pássaro que se alimenta desse inseto também seria afetado, e assim sucessivamente atingindo toda a cadeia alimentar. Ela foi muito criticada na época, e

mesmo após a comprovação científica do potencial teratogênico, cancerígeno e cumulativo do DDT (FLORES et al., 2004), até hoje tem pessoas que a responsabilizam pelas mortes causadas pela malária, visto que seus estudos tiveram papel importante nas campanhas de banimento do DDT (CARNEIRO, 2012).

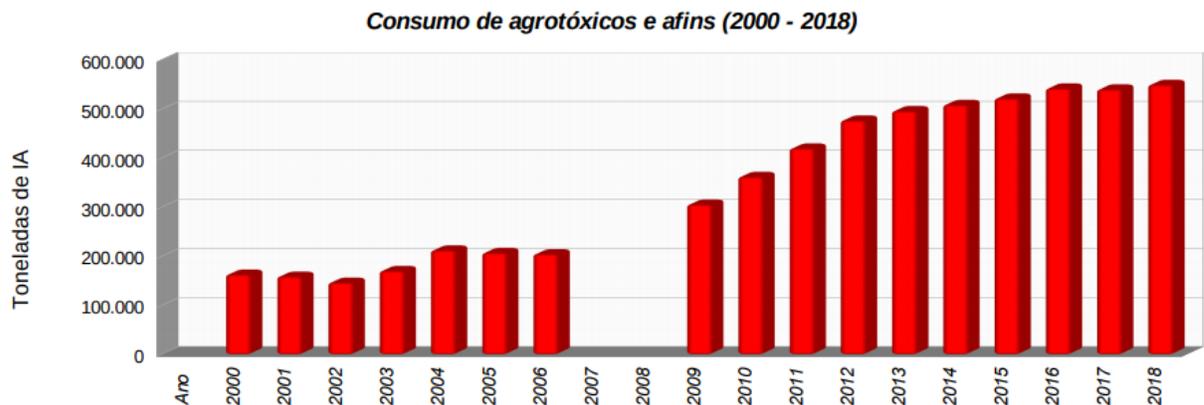
Sob uma análise cronológica, os agrotóxicos se tornaram presentes na nossa sociedade desde a primeira guerra mundial, mas apenas a partir da segunda guerra é que essa indústria química teve impulso e se disseminou globalmente (SERRA et al., 2016). Após a segunda guerra teve início a chamada revolução verde, em que as indústrias químicas que então fabricavam os venenos utilizados como armas químicas nas grandes guerras encontraram na agricultura um novo mercado para dar continuidade ao seu comércio (LONDRES, 2011). Então, os estados norte americanos e suas empresas privadas, com a justificativa principal de erradicar a fome no mundo, passaram a disseminar a importância da utilização de agroquímicos, além de maquinários agrários, conjunto de métodos que ficou conhecido como “pacote tecnológico” (LAZZARI; SOUZA, 2017), para uma produção em larga escala, principalmente na plantação de trigo, milho e arroz que são a base da alimentação mundial.

No Brasil, a Revolução Verde foi instaurada em 1965, após o golpe militar, no início da ditadura (DIAS et. al. 2018; ANDRADES; GANIMI, 2007; LONDRES, 2011) com a promessa principal de desenvolvimento econômico, erradicação da fome (motivada pela segunda guerra), modernização do campo (com maquinários agrários), e aumento significativo da produtividade (LAZZARI; SOUZA, 2017). Diversas políticas públicas de incentivo fiscal para utilização do pacote tecnológico surgiram facilitando o acesso e o uso dessas substâncias e maquinários (LAZZARI; SOUZA, 2017; LONDRES, 2011; SERRA et al., 2016).

A revolução verde foi um marco no uso de agrotóxicos mundialmente, porém na primeira década de 2000 o Brasil se tornou destaque quando o assunto foi o uso dessas substâncias assumindo gastos com proporções absurdas. Entre 2001 e 2008 a venda de venenos agrícolas no país passou de pouco mais de US\$ 2 bilhões para mais US\$ 7 bilhões, colocando o país na posição de maior consumidor de agrotóxicos do mundo, lugar em que permanecemos até hoje (LONDRES, 2011). Segundo dados do

Sindicato da Indústria de Agrotóxicos, o SINDAG (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola), em 2009 chegamos a comprar um milhão de toneladas de produtos químicos, o que representa 5,2 kg de veneno por habitante na época, e esses números só aumentaram com o Brasil sendo consumidor de produtos que nos Estados Unidos, China, entre outros países foram proibidos e estão fora de uso. A figura 1 demonstra o crescimento do uso de agrotóxicos no Brasil do ano 2000 até 2018, dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais que representam um aumento de mais de 200% em um período de 18 anos (IBAMA 2019).

Figura 1 – Consumo de agrotóxicos e afins no Brasil no período de 2000 a 2018.



Fonte: Ibama/Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto 4.074/2002.

Atualmente, o Brasil possui muitas políticas públicas que fomentam o uso e o comércio de agrotóxicos mantidas pela influência da bancada ruralista no Congresso Nacional (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Das empresas que mais tem influência nesse comércio destaca-se a Syngenta que se encontra em primeiro lugar no número de vendas, seguida da Bayer e da Corteva, segundo dados de uma pesquisa não oficial de 2018 realizada pela AENDA (Associação Brasileira de Defensivos Pós Patente). Em 2019, o Brasil aprovou 474 agrotóxicos, maior número registrado pelo Ministério da Agricultura desde 2000 (Fig. 2).

Figura 2 – Total de agrotóxicos registrados por ano no Brasil.



Fonte: MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas> acesso em 19/11/2020.

Dos agrotóxicos mais consumidos no país o Glifosato, componente da formulação do Roundup®, segue sendo o mais utilizado por anos, com números de vendas gritantes que chegam a ser aproximadamente 4 vezes maiores do que as do 2,4-D, pesticida que se encontra na segunda posição da tabela formulada com dados do IBAMA do ano de 2019 (Tabela 1). Inicialmente o uso desse herbicida não era recomendado, pois ele prejudicava a absorção de nutrientes da planta, porém com a implementação das sementes transgênicas de soja, milho e algodão, formuladas para que a planta se tornasse resistente ao uso do glifosato, esse agrotóxico passou a ser utilizado em larga escala o que contraria o discurso inicial de que a transgenia na agricultura seria uma tecnologia para inibir o uso de agrotóxicos. No caso da soja Roundup Ready® tolerante ao glifosato, por exemplo o cultivo induz ao maior consumo desse herbicida, além da utilização como dessecante para uma colheita antecipada (CARNEIRO, 2012).

Tabela 1 – Os 10 ingredientes ativos mais vendidos no Brasil no ano de 2019.

OS 10 ingredientes ativos mais vendidos – 2019		
<i>Unidade de medida: toneladas de IA</i>		
Ingrediente Ativo	Vendas (ton. IA)	Ranking
Glifosato e seus sais	217.592,24	1º
2,4-D	52.426,92	2º
Mancozebe	49.162,59	3º
Acefato	28.432,50	4º
Atrazina	23.429,38	5º
Clorotalonil	16.653,05	6º
dicloreto de paraquate	16.398,14	7º
Malationa	13.576,47	8º
Enxofre	11.882,33	9º
Clorpirifós	10.827,78	10º

Fonte: IBAMA / Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto n° 4.074/2002

Conforme mencionado anteriormente, o consumo de agrotóxicos no Brasil vem crescendo nos últimos anos. Esse crescimento coloca em risco os agricultores, que, através da aplicação desses compostos são diretamente expostos, bem como familiares de agricultores e residentes em áreas rurais próximas aos locais de aplicação. Além disso, a população em geral, mesmo em áreas urbanas também acaba sendo exposta, através do consumo e alimentos e água contaminados. Essas exposições são responsáveis pelos diversos casos de intoxicação por agrotóxicos registrados no país todos os anos, o que pode trazer consequências para a saúde humana.

Dados retirados do relatório anual do Sistema Nacional de Informações Toxicofarmacológicas (SINITOX) (Fig. 3) indicam um decréscimo nos casos de intoxicação por agrotóxicos de uso agrícola registrados por ano no país, isso pode ser por conta da diminuição da participação dos Centros de Informação e Assistência Toxicológica (CIATs) no levantamento de dados; portanto não se deve levar em consideração esse

decréscimo, visto que o uso dessas substâncias só tem aumentado. A maioria dos casos de intoxicação por agrotóxicos registrados são relacionados a tentativas de suicídio, com uma média de 43,07% do total de casos, seguido de acidentes individuais com uma média de 26,27% do total de casos, e em terceiro lugar estão as exposições ocupacionais com 22,48% do total de casos.

De acordo com o último relatório feito pelo CIATox/SC, em que constam os dados do ano de 2019, em Santa Catarina foram registrados 20.506 atendimentos de casos de intoxicações em humanos, destes, 705 foram atendimentos realizados devido à intoxicação causada por agrotóxicos. Esse dado coloca os agrotóxicos em sexta posição no ranking de agentes que mais causaram efeito intoxicante em Santa Catarina.

Figura 3 – Número de casos de Intoxicação por Agrotóxico de Uso Agrícola registrados por ano no Brasil.



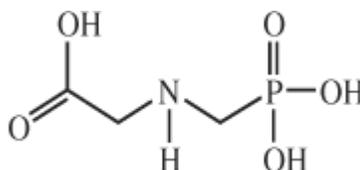
Fonte: Dados do relatório anual do Sinitox <https://sinitox.iciict.fiocruz.br/dados-de-agentes-toxicos> acesso em: 23/04/2021.

1.2 Glifosato

Na classificação geral de herbicidas, o glifosato(N-(fosfometil)glicina) (Fig. 4) é considerado como um herbicida sistêmico e não seletivo, isto é, pode ser aplicado para

todos os tipos de plantas indesejadas (MACHADO, 2016). Apresenta largo espectro de ação, ou seja, fornece um controle de plantas daninhas anuais ou perenes, tanto de folhas largas como estreitas (GALLI; MONTEZUMA, 2005). Herbicida pertencente à classe química dos organofosforados, não inibidor da colinesterase é usualmente formulado juntamente com uma base orgânica, a isopropilamina (IPA), para que assim seja um sal mais solúvel em água e melhor absorvido pelas plantas. (MACHADO, 2016).

Figura 4 – Fórmula estrutural do Glifosato.



Fonte: Adaptado de Coutinho, Cláudia F. B., & Mazo, Luiz Henrique. (2005). Complexos metálicos com o herbicida glifosato: revisão. *Química Nova*, 28(6), 1038-1045. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000600019>

Utilizado em diversos tipos de cultivo, principalmente na plantação de soja transgênica, o herbicida costuma ser pulverizado e absorvido pela planta através das folhas e caulículos novos, sendo a partir dessa absorção inicial transportado por toda a planta e agindo nos sistemas enzimáticos com a finalidade de inibir o metabolismo de aminoácidos (JUNIOR et al., 2002). Seu mecanismo de ação se baseia na inibição da enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase (EPSPS), na via do chiquimato. A via do chiquimato produz os aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, os quais são usados para a síntese de proteínas, além disso, desempenha um papel importante na produção de metabólitos secundários, como a lignina. Atualmente, entende-se que a inibição da EPSPS desregula a via do chiquimato, resultando em fluxo descontrolado de carbono, isso esgota os pools de compostos necessários para a fixação de carbono, causando uma interrupção geral do metabolismo dos organismos (HOSSEINI BAI et al., 2016). As plantas tratadas com glifosato morrem lentamente, em

poucos dias ou semanas e, devido ao transporte por todo o sistema, nenhuma parte da planta sobrevive (JUNIOR et al., 2002).

Desde 1971, quando foi relatado primeiramente como herbicida, três tipos de glifosato vêm sendo comercializados: glifosato-isopropilamônio, glifosato-sesquisódio (patenteados por Monsanto e vendido como Roundup®), e glifosato-trimesium (patenteado por ICI, atual Syngenta) (JUNIOR et al., 2002). Atualmente, o Glifosato é constituinte de mais de 750 produtos usados não só em aplicações agrícolas e florestais, mas também em áreas urbanas e residenciais (LONDRES, 2011).

A Monsanto comercializa o glifosato sob a marca Roundup® e detinha a patente até o ano 2000. Hoje em dia o produto é formulado e vendido por diversas empresas. Dados do Ministério da Agricultura mostram que atualmente existem 26 empresas registradas para comercializar 64 produtos à base de glifosato (LONDRES, 2011). Estima-se que mais de 75% das lavouras transgênicas cultivadas no Brasil são de soja transgênica da Monsanto tolerantes ao Roundup® (LONDRES, 2011). A soja Roundup Ready® foi a primeira planta transgênica disponibilizada no mercado, o que levou ao aumento do uso tanto deste tipo de alimento quanto do agrotóxico nela aplicado (FRACALLOSSI DE MORAES, 2019).

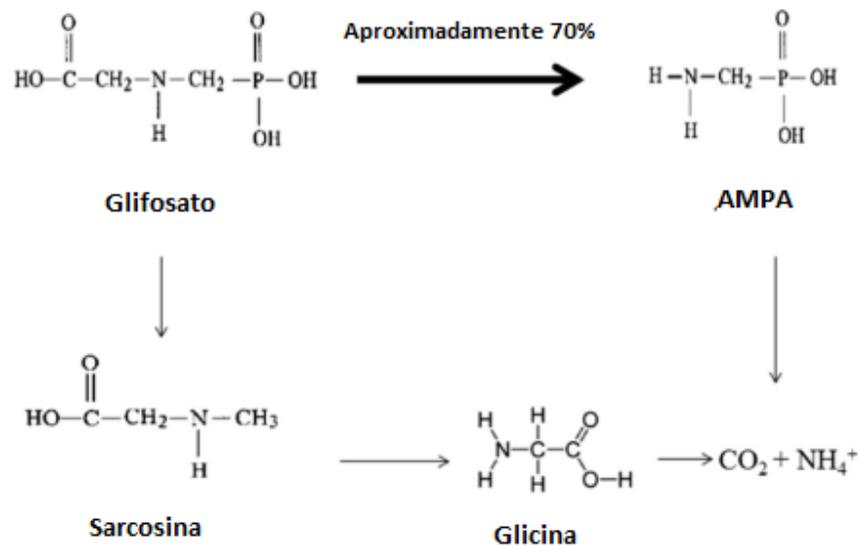
O Roundup® é formulado com água, e um agente tensoativo (360 g de ácido/L livre ou 480 g/L de sal IPA). A proporção entre glifosato e o agente tensoativo varia de acordo com a legislação do país em questão. Dentro da composição do Roundup®, o que chama mais atenção é a utilização do polioxietilenoamina (POEA), o qual é uma mistura de alquilaminas de cadeias longas polietoxilado e sintetizado a partir de ácidos graxos derivados de animais, utilizado para favorecer a penetração do herbicida na cutícula da planta. O POEA é considerado de 2 a 3 vezes mais tóxico que o glifosato, indicando que o produto formulado possui toxicidade maior que o glifosato isolado (WILLIAMS; KROES; MUNRO, 2000; MESNAGE; BERNAY; SÈRALINI, 2013; SRIBANDITMONGKOL et al, 2012; ELSHENAWY, 2009).

De acordo com dados da ficha toxicológica desenvolvida pela CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) responsável pelo controle, fiscalização, monitoramento e licenciamento de atividades geradoras de poluição, no Brasil, o uso agrícola do glifosato é autorizado nas culturas de algodão, ameixa,

amendoim, arroz, aveia preta, azevém, banana, batata-doce, batata-acon, beterraba, caju, caqui, cacau, café, cana-de-açúcar, cará, carambola, cenoura, citros, coco, ervilha, feijão, feijão-caupi, figo, fumo, grão-de-bico, gengibre, goiaba, inhame, lentilha, maçã, mamão, mandioca, mandioquinha-salsa, mangaba, milho, nabo, nectarina, pastagem, pêra, pêssego, rabanete, seringueira, soja, trigo e uva. Também é usado em pastagem e em florestas de pinus e eucalipto.

Assim que aplicado, o glifosato pode sofrer processos de mineralização, imobilização ou lixiviação, tem uma pressão de vapor extremamente baixa, portanto, não sofre volatilização em um grau significativo. A mineralização do glifosato é considerada o mecanismo de degradação primário, resultando na produção de AMPA, ácido metilfosfônico, glicina e sarcosina (Fig.5). O AMPA é o principal metabólito do glifosato e é posteriormente mineralizado a metilamina e fosfato, com decomposição produzindo finalmente CO_2 e NH_3 (HOSSEINI BAI; et al. 2016).

Figura 5 – Principais metabólitos do Glifosato.



Fonte: Adaptado de: HOSSEINI BAI, S.; OGBOURNE, S. M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016.

Na exposição ocupacional ao herbicida a inalação e o contato dérmico são as principais vias de exposição, enquanto que para a população geral é a ingestão de

água e alimentos contaminados. O glifosato e o AMPA são considerados de baixo risco para mamíferos, principalmente por causa da baixa absorção cutânea e gastrointestinal. Tanto o glifosato quanto o AMPA são excretados na urina, com meia-vida entre 3 e 15 h, sem alteração em sua estrutura. Por essas razões, combinados com dados de toxicidade aguda, o glifosato e o AMPA são classificados na categoria de praticamente não tóxico e não irritante pela EPA (*US Environmental Protection Agency*) (HOSSEINI BAI; et al. 2016). Intoxicação aguda foi relatada em seres humanos após ingestão acidental ou intencional de formulações concentradas de glifosato com efeitos gastrintestinal, cardiovascular, pulmonar e renal e, ocasionalmente, morte (CETESB, 2018). Dados do relatório anual do CIATox/SC indicam que, no ano de 2019, o Glifosato se encontrou na 22ª posição no ranking de substâncias mais envolvidas nas exposições humanas com 221 casos, número que o coloca também na posição de agrotóxico mais registrado em exposições humanas, sendo o segundo que causou mais mortes, com 4 óbitos. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a DL₅₀ oral do glifosato puro em ratos é de 4.230 mg/kg, enquanto o fabricante (Monsanto) cita DL₅₀ de 5.600 mg/kg. Porém, mesmo com a toxicidade aguda baixa, a utilização do surfactante POEA torna o herbicida com um grau de periculosidade maior causando sérias irritações nos olhos, sistema respiratório e pele (JUNIOR et al., 2002).

No entanto, devido a dados recentes sobre a presença de resíduos no ar, água potável, plantações e tecidos animais destinados ao consumo humano, a toxicidade aguda pode não ser tão importante quanto a toxicidade crônica, subcrônica e reprodutiva, que ocorrem em concentrações mais baixas (HOSSEINI BAI; et al. 2016). O uso de quantidades significativas por um tempo prolongado, pode causar danos desde o nascimento de algumas espécies animais. Os estudos crônicos baseados na alimentação não mostraram sintomas como, perda de peso, efeitos ao sangue e pâncreas ou até evidência de carcinogenicidade nos seres humanos (JUNIOR et al., 2002). No entanto, em estudos feitos com ratos e outros mamíferos foram evidenciados esses sinais, entre outros, como danos ao fígado, aumento dos ácidos biliares, inflamação crônica dos rins, diminuição do peso corporal e aumento do potássio e do fósforo no sangue e até sinais irreversíveis como danos em hepatócitos, tanto em doses elevadas quanto em doses menores (HOSSEINI BAI; et al. 2016).

A intoxicação aguda é aquela na qual há a exposição a doses elevadas de produtos altamente tóxicos, por curto período, levando a aparição rápida dos sintomas em apenas algumas horas após a exposição (DE MELO ABREU, 2015). Pode ocorrer de forma leve, moderada ou grave, em função da quantidade de agrotóxico absorvido. Os sintomas que aparecem mais comumente são: dores de cabeça, náuseas, vômitos, fraqueza, salivação, tremores, dificuldade respiratória, dores abdominais, convulsões, entre outros. Algumas vezes, esse tipo de intoxicação pode levar à morte (LONDRES, 2011). Em uma situação de intoxicação aguda por glifosato pela via dérmica pode levar a uma dermatite de contato e, em caso de ingestão de doses elevadas, pode ocorrer síndrome tóxica, com sintomas como: epigastralgia, ulceração ou lesão da mucosa gástrica, hipertermia, anúria, oligúria, hipotensão, conjuntivite, edema pulmonar, choque cardiogênico, arritmias cardíacas, necrose tubular aguda, elevação de enzimas hepáticas, aumento da quantidade de leucócitos, acidose metabólica e hipercalemia (JUNIOR et al., 2002).

Independentemente de ser direta ou indireta, evidências recentes indicam que danos ao DNA podem ocorrer em concentrações relativamente baixas de glifosato, no entanto, a genotoxicidade está ligada à citotoxicidade e por conta disso muitos pesquisadores afirmam que o Glifosato não é genotóxico (HOSSEINI BAI; et al. 2016). Devido a esta conclusão sobre a genotoxicidade, a carcinogenicidade por mutações também foi questionada, porém em 2015 a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou o glifosato como "provavelmente carcinogênico para humanos" (grupo 2A) indicando que há a necessidade da realização de mais experimentos e pesquisas com essa temática.

Além disso, estudos recentes têm mostrado o efeito tóxico do glifosato e HBG sobre o sistema endócrino e reprodutivo (DAI et al., 2016). Muitos desses estudos apontam o glifosato e HBG como desreguladores endócrinos. Os desreguladores endócrinos são compostos exógenos que podem afetar a síntese, secreção e a ação de hormônios no organismo (LEVINE; WEBB; SALTMIRAS, 2020). Entretanto, os efeitos do glifosato e herbicidas à base de glifosato (HBG) sobre o sistema endócrino e reprodutivo ainda é bastante contestado pela literatura (DE ARAÚJO RAMOS et al., 2021). Segundo o programa de *screening* de desreguladores endócrinos da Agência de

Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*Endocrine Disruptor Screening Program - EDSP*) (AKERMAN et al., 2015), bem como, dados de estudos recentemente publicados (LEVINE; WEBB; SALTMIRAS, 2020), não existem evidências suficientes para classificar o glifosato como um desregulador endócrino.

A toxicidade reprodutiva do glifosato vem sendo um tema muito abordado em estudos recentes. O potencial do glifosato para causar danos no sistema reprodutivo humano foi relatado como "muito reduzido", porém esses novos estudos realizados em mamíferos vêm mostrando diversos sinais deletérios que vão desde problemas na ovogênese e espermatogênese até disfunções hormonais mais graves e suas consequências secundárias (JARRELL; AHAMMAD; BENSON, 2020).

Levando em consideração a massificação do uso desse agroquímico, além da falta de dados sobre a intoxicação humana, bem como as controvérsias na literatura acerca do potencial efeito tóxico do herbicida sobre o sistema endócrino e reprodutivo, o presente estudo tem como objetivo revisar a literatura científica recente sobre os impactos da exposição ao glifosato e HBG sobre o sistema reprodutivo, com a finalidade de esclarecer e apontar os possíveis riscos da exposição ao agrotóxico para a reprodução de mamíferos.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da exposição ao glifosato e HBGs sobre o sistema reprodutivo de mamíferos, através de uma abordagem bibliográfica narrativa.

2.2 Objetivos específicos

1. Revisar os impactos da exposição ao glifosato e HBG sobre o sistema reprodutivo de machos, com foco na espermatogênese, efeitos em hormônios sexuais, motilidade e concentração de espermatozoides.

2. Revisar os impactos da exposição ao glifosato e HBG sobre o sistema reprodutivo de fêmeas, com foco na ovogênese e nos efeitos em hormônios sexuais.

3. Justificativa

Com o avanço do sistema capitalista os métodos de produção se adaptaram conforme a demanda do mercado, portanto passaram a ser desenvolvidos com a finalidade de gerar uma produção em larga escala e com tempo reduzido - evitando a invasão de pragas e pestes. Com isso as indústrias químicas aumentaram a produção de pesticidas e agrotóxicos e as indústrias agropecuárias aumentaram o uso desses produtos, para assim, gerar alimentos com grande aceitação no mercado.

O Brasil se encontra na posição de maior consumidor de agrotóxicos do mundo desde 2008, e os números só aumentam. No ano de 2019 foi aprovado o registro de 474 agrotóxicos, incluindo produtos inéditos e produtos genéricos. O uso dessas substâncias está normalizado na nossa sociedade, e a população não tem o conhecimento dos riscos que podem causar ao organismo, principalmente as exposições a essas substâncias a longo prazo. O glifosato, agrotóxico mais utilizado no Brasil nos últimos anos, passou a ser comercializado em larga escala com a implementação das sementes transgênicas resistentes a esse produto, e até então ele é classificado como pouco tóxico aos seres humanos, mas muitos estudos já comprovam os riscos do uso desse herbicida. De acordo com pesquisas da organização mundial de saúde, o glifosato é qualificado como cancerígeno e causador de danos ao DNA e a cromossomos de células humanas (NEROZZI et al., 2020), sem contar a toxicidade do surfactante utilizado na composição do Roundup® da Monsanto – formulação à base do glifosato – que é muito mais tóxico do que o próprio componente ativo (ANIFANDIS et al., 2018b). Estudos também mostram efeitos tóxicos do glifosato e HBG sobre o sistema endócrino e reprodutivo (DE ARAÚJO RAMOS et al., 2021); entretanto ainda existem controversas na literatura sobre esse tema.

Outro ponto importante a ser destacado no uso dessas substâncias é o dano ao meio ambiente, visto que ao se utilizar um veneno em uma plantação ocorrerá a contaminação da água, do solo e pode alterar o ecossistema natural da região, além da biodiversidade ali existente. Essa contaminação ao ambiente pode levar a uma ingestão indireta do produto, que pode ocasionar danos à saúde humana.

Portanto, levando em consideração a normalização do uso e a toxicidade comprovada dos agrotóxicos, é importante que se discuta os potenciais impactos da exposição a esses compostos para a saúde. Este trabalho tem como objetivo revisar a literatura recente sobre os efeitos da exposição ao glifosato e HBG no sistema reprodutivo de mamíferos. Uma revisão neste tema poderá auxiliar no entendimento dos efeitos tóxicos desse herbicida sobre a reprodução, o que é de suma importância para as agências reguladoras na tomada de decisões relacionadas ao uso de certos princípios ativos com potencial risco para a saúde. Além disso, o estudo tem como função social servir de alerta para a população em geral sobre como o uso do glifosato pode afetar a saúde, o que poderá contribuir para a conscientização dos trabalhadores rurais sobre a importância do manuseio correto dos agrotóxicos e uso de equipamentos de proteção adequados, trazendo maior segurança a esses indivíduos.

4. Metodologia

O presente estudo tem caráter teórico e foi desenvolvido a partir de uma revisão bibliográfica do tipo narrativa. Abaixo será abordado como foi realizada a metodologia de pesquisa deste trabalho.

4.1 Busca de estudos na literatura

Foi realizado um levantamento de publicações nacionais e internacionais abordando o tema da problemática através de busca nas bases de dados Medline, via Pubmed, Scientific Electronic Library (SciELO) e Web of Science, utilizando as seguintes palavras chave e suas associações: Glifosato, Herbicidas à base de Glifosato, toxicologia e toxicidade reprodutiva, termos pesquisados majoritariamente em inglês.

4.2 Critérios de inclusão e exclusão

Os seguintes critérios de inclusão foram considerados para a seleção dos artigos: artigos publicados nos últimos 10 anos (Janeiro de 2011 a Fevereiro 2021); artigos nas línguas inglesa e portuguesa; estudos observacionais, estudos epidemiológicos, relatos de caso e estudos experimentais em espécies de mamíferos (*in vivo* e *in vitro*) que avaliaram os efeitos da exposição ao glifosato e HBG sobre o sistema reprodutivo de machos e fêmeas.

Os critérios de exclusão considerados foram: artigos duplicados; artigos publicados fora do período cronológico estipulado; artigos em línguas diferentes daquelas mencionadas anteriormente; estudos experimentais em espécies diferentes de mamíferos e revisões de literatura.

4.3 Seleção dos estudos e coleta de dados

A seleção dos artigos foi realizada segundo os critérios de inclusão e exclusão previamente descritos. Após a realização da busca nas bases de dados utilizando as palavras chave, foi realizada, primeiramente, uma leitura exploratória do material inicialmente encontrado que consistiu em uma revisão rápida, através da leitura dos

títulos e resumos dos artigos selecionados, para a confirmação da importância do artigo para o tema do trabalho. Durante a pesquisa inicial, utilizando as palavras chave listadas, foram encontrados nas bases de dados PubMed e Web of Science, respectivamente, 122 e 30 artigos. Já na base de dados SciELO, não foram encontrados artigos que se enquadrassem nos critérios de inclusão previamente definidos para o estudo.

Em uma segunda etapa, os artigos científicos previamente encontrados foram lidos na íntegra e avaliados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, para o processo de seleção final.

Após realizar uma leitura mais seletiva, foram selecionados um total de 17 artigos (14 artigos da base do PubMed e 3 artigos da Web of Science). Após realizar uma leitura mais seletiva, foram selecionados um total de 17 artigos (14 artigos da base do PubMed e 3 artigos da Web of Science). Dos 122 artigos encontrados na base de dados do PubMed, 108 foram eliminados por serem revisões de literatura, pesquisas realizadas em espécies diferentes de mamíferos e artigos em línguas diferentes do inglês e português. Dos 30 artigos encontrados na base do Web of Science, 27 foram eliminados, pois eram artigos duplicados, artigos de revisão, pesquisas realizadas em espécies diferentes de mamíferos e artigos em língua diferente do inglês e português. As informações dos artigos selecionados foram extraídas e estruturadas em planilhas no programa Microsoft Excel 2013.

As seguintes informações foram extraídas dos artigos selecionados: informações gerais: país de origem do estudo, título do estudo, primeiro autor e ano de publicação; tipo de estudo: epidemiológico, experimental (*in vivo* ou *in vitro*); espécie animal/amostra biológica avaliada; exposição: glifosato ou HBG; efeitos sobre o sistema reprodutivo de machos e fêmeas: espermatogênese, motilidade de espermatozoides, ovogênese, alterações hormonais. Os resultados obtidos foram apresentados de forma descritiva e na forma de quadros.

5. Resultados e discussão

Nos últimos anos, cada vez mais atenção tem sido dada à toxicidade reprodutiva induzida pelo glifosato e sua formulação comercial, como o Roundup® (CAI et al., 2017; DAI et al., 2016; JARRELL; AHAMMAD; BENSON, 2020). Dada a variedade de efeitos negativos sobre a saúde reprodutiva relatados como associados à exposição à HBG, é necessário abrir as portas para a discussão sobre a toxicidade dessas formulações. Com base na literatura revisada neste estudo, alguns ingredientes de HBGs, tanto ativos quanto inertes, parecem atuar como tóxicos reprodutivos, tendo uma ampla gama de efeitos nos sistemas reprodutivos masculino e feminino, incluindo desregulação endócrina, danos aos tecidos e disfunção de gametogênese (JARRELL; AHAMMAD; BENSON, 2020). Vale ressaltar que vários fatores podem interferir nos resultados dos estudos como variabilidade intraespecífica, idade no início dos experimentos, duração da exposição ao glifosato, peso corporal e outras variações biológicas potenciais (CAI et al., 2017), portanto é importante relacionar os efeitos encontrados com as condições em que o experimento foi realizado nos diferentes estudos.

Primeiramente nesse estudo de revisão serão expostos os dados encontrados relacionados a toxicidade do glifosato e HBGs no sistema reprodutivo de machos, incluindo efeitos endócrinos, na espermatogênese e motilidade dos espermatozoides. No segundo tópico serão abordados os efeitos no sistema reprodutivo de fêmeas, incluindo também efeitos endócrinos e na ovogênese.

5.1 Toxicidade do glifosato e HBGs no sistema reprodutivo de machos

Nos últimos 60 anos, observou-se uma diminuição progressiva da função reprodutiva masculina (GORGA et al., 2020). A exposição ao glifosato foi associada a muitos efeitos adversos relacionados a essa função reprodutiva em humanos e roedores. Até agora, os efeitos tóxicos relatados e a avaliação de risco incluem redução do volume de ejaculação, redução da concentração de testosterona, redução na produção de espermatozoides do epitélio seminífero, redução na concentração espermática, alteração na morfologia espermática, redução na motilidade espermática e

aumento na taxa de aberração espermática (ANIFANDIS et al., 2018; BWANA MUTWEDU et al., 2021; CAI et al., 2017; DAI et al., 2016; DE LIZ OLIVEIRA CAVALLI et al., 2013; GORGA et al., 2020; JARRELL; AHAMMAD; BENSON, 2020; OWAGBORIAYE et al., 2017a; PHAM et al., 2019; ROMANO et al., 2012; VANLAEYS et al., 2018).

No quadro 1 encontram-se os artigos relacionados à toxicidade reprodutiva do glifosato no sistema reprodutivo de machos que foram selecionadas para esta revisão, totalizando 12 artigos dentro da temática. Foram encontradas pesquisas de vários países distintos e vários continentes, o que demonstra o interesse mundial acerca da toxicidade reprodutiva desse herbicida. A grande maioria dos artigos foram pesquisas experimentais realizadas em ratos, com doses variadas do toxicante isolado ou de suas formulações comerciais. A formulação comercial mais utilizada foi o Roundup®. Dentre as alterações relatadas com mais frequência pelos estudos destacam-se, alterações na concentração de espermatozoides, assim como na sua motilidade.

Quadro 1 – Dados dos artigos selecionados e os principais efeitos deletérios encontrados no sistema reprodutivo de machos.

Primeiro Autor/Ano da publicação	Título do artigo	País de origem	Tipo de estudo	Espécie animal/ Amostra biológica analisada	Protocolo experimental	Efeitos deletérios
Anifandis G, Et al. (2018) a	The effect of glyphosate on human sperm motility and sperm DNA fragmentation.	Grécia	<i>In vitro</i>	Amostras de sêmen humano	0,36 mg/L de Glifosato; 1 h de exposição.	Redução na motilidade dos espermatozoides.
Anifandis G, Et al. (2018) b	The in vitro impact of the herbicide Roundup on human sperm motility and sperm mitochondria.	Grécia	<i>In vitro</i>	Amostras de sêmen humano	1 mg/L de Roundup® (correspondendo a uma concentração de glifosato de 0,36 mg/L); 1 e 3 h de exposição.	Redução na motilidade dos espermatozoides e disfunção mitocondrial após 1 h de exposição.
Cavalli VL, Et al. (2013)	Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell	Brasil	<i>In vitro</i>	Cultivo primário de células de Sertoli/testic	0,72 a 360 ppm de Roundup® ou 36 ppm de Roundup® ; 30	Aumento do Ca ²⁺ intracelular, estresse oxidativo e alterações em vias de sinalização

	death in rat testis and Sertoli cells.			ulos de ratos	min de exposição.	intracelular.
Dai P, Et al. (2016)	Effect of glyphosate on reproductive organs in male rat.	China	<i>In vivo</i>	Ratos	5, 50, 500 mg/kg de Glifosato; v.o. durante 5 semanas.	Diminuição significativa na contagem total de espermatozoides na dose de 500 mg/kg.
Gorga A, Et al (2020)	In vitro effects of glyphosate and Roundup on Sertoli cell physiology.	Argentina	<i>In vitro</i>	Cultivo primário de células de Sertoli de ratos	10 e 100 ppm de Glifosato e Roundup®; 48 h de exposição.	Alteração na integridade da barreira hemato-testicular das células de Sertoli.
Manservisi F, Et al. (2019)	The Ramazzini Institute 13-week pilot study glyphosate-based herbicides administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on development and endocrine system.	Itália	<i>In vivo</i>	Ratos	1,75 mg/kg/dia – de glifosato ou Roundup® na água de beber; DG 6 ao DPN 120.	Efeitos endócrinos e alterações em parâmetros de desenvolvimento reprodutivo.
Mutwedu VB, Et al (2021)	Growth performance and reproductive function impairment of glyphosate- based herbicide in male guinea pig (<i>Cavia porcellus</i>).	Congo	<i>In vivo</i>	Porquinho-da-Índia	186, 280 e 560 mg/kg de HBG (WILLOSATE®) , equivalente a 67, 103 e 202 mg/kg de glifosato; v.o. durante 60 dias.	Diminuição na motilidade, na concentração e na viabilidade de espermatozoides.
Nerozzi C, Et al. (2020)	Effects of Roundup and its main component, glyphosate, upon mammalian sperm function and survival.	Itália	<i>In vitro</i>	Amostras de sêmen de suínos	5, 25, 50, 100 e 360 µg/mL de Glifosato e Roundup® (em concentrações equivalentes às concentrações de glifosato testadas); 3 h de exposição	Diminuição da motilidade total e progressiva, viabilidade, atividade mitocondrial e integridade acrossômica dos espermatozoides.
Owagboriaye FO, Et al. (2017)	Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat.	Nigéria	<i>In vivo</i>	Ratos	0,01, 0,14 e 0,69 mL/kg/dia - de Roundup® (correspondendo a uma dose de glifosato de 3,6,50,4 e 248,4 mg/kg/dia, respectivamente); v.o. durante 12 semanas.	Perturbação na arquitetura celular testicular normal, alterações nos níveis de hormônios sexuais, redução na contagem e motilidade dos espermatozoides e estresse oxidativo.
Pham TH, Et al. (2019)	Perinatal exposure to glyphosate and a	França	<i>In vivo</i>	Camundongos	0,5, 5 e 50 mg/kg/dia de	Efeitos desreguladores endócrinos.

	glyphosate-based herbicide affect spermatogenesis in mice.				glifosato ou Roundup® na água de beber; DG 10,5 ao DPP 20.	
Romano MA, Et al. (2011)	Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression.	Brasil	<i>In vivo</i>	Ratos	2,5 mL/kg de Roundup® (correspondendo a uma dose de 50 mg/kg de glifosato) v.o.; DG 18 ao DPN 5.	Alterações no comportamento sexual, alterações histológicas e nos hormônios sexuais.
Vanlaeys A, Et al. (2018)	Formulants of glyphosate-based herbicides have more deleterious impact than glyphosate on TM4 Sertoli cells.	França	<i>In vitro</i>	Linhagem de células de Sertoli TM4 de camundongos	10 – 10.000 ppm de Glifosato e HBGs (Roundup® e Glyphogan); 24 h de exposição.	Diminuição da viabilidade celular, disfunção mitocondrial, alterações nos sistemas de desintoxicação celular e acúmulo de gotículas de lipídios intracelular. Os HBGs foram mais tóxicos que o glifosato isolado.

Fonte: A autora, 2021.

Legenda: DG: dia gestacional; DPP: dia pós-parto; DPN: dia pós-natal; v.o.: via oral.

A motilidade dos espermatozoides é um dos principais aspectos em relação à fertilização, visto que apenas os espermatozoides móveis chegam ao óvulo para a fecundação. Ao reduzir a motilidade conseqüentemente se reduz a capacidade reprodutiva desse espermatozoide (CAI et al., 2017). Diversas pesquisas têm demonstrado o efeito do glifosato sob esse parâmetro. Um estudo recente realizado com amostras de sêmen humano fresco, coletadas após 48 a 96 h de abstinência e tratadas com uma concentração de 0,36 mg/mL de glifosato por uma hora, demonstrou uma redução significativa na motilidade progressiva dos espermatozoides expostos ao herbicida em comparação com as amostras controle (ANIFANDIS et al., 2018a). Em outro estudo, realizado pelo mesmo pesquisador, porém considerando a formulação Roundup®, foram observados resultados semelhantes. Neste estudo, as amostras de sêmen humano foram expostas a 1 mg/L de Roundup® por 1 h e foi observada uma diminuição significativa na motilidade dos espermatozoides, semelhante ao estudo anterior com o glifosato isolado. Além disso, os autores também observaram disfunção mitocondrial nos espermatozoides expostos ao Roundup®, indicando que a redução

progressiva da motilidade está possivelmente correlacionada com à disfunção mitocondrial (ANIFANDIS et al., 2018b). Vale destacar que a concentração de Roundup® utilizada neste estudo (1 mg/L) equivale a uma concentração de glifosato de 0,36 mg/L, que foi a concentração utilizada pelo estudo anterior, indicando que os efeitos observados sobre a motilidade de espermatozoides parecem ser mediados pelo glifosato (ANIFANDIS et al., 2018b). Além disso, as concentrações de glifosato ou Roundup® utilizadas nesses estudos são menores do que as concentrações encontradas em amostras de sangue de indivíduos em casos de intoxicação leve a moderada, que variou entre de 0,6 a 150 mg/L (ZOUAOUI et al., 2013).

Em outro estudo *in vitro*, realizado por Nerozzi et al. em 2020, no qual foi pesquisada a função e sobrevivência de espermatozoides, os autores encontraram resultados semelhantes aos descritos por Anifandis e colaboradores, porém a concentração de glifosato que mostrou efeito deletério foi maior do que a utilizada no estudo descrito anteriormente. Essa discrepância pode ser devido a sensibilidade dependente da espécie, visto que o primeiro estudo foi realizado com amostras de sêmen humano enquanto o segundo foi realizado com amostras de sêmen de suínos. Nesse experimento, amostras de sêmen de suínos foram expostas à concentrações que variam de 5 a 360 µg/mL de glifosato ou Roundup® (em concentrações equivalentes às concentrações de glifosato utilizadas) em um intervalo de 1 a 3 horas de exposição. Os resultados mostraram que a exposição ao glifosato, apenas na concentração mais alta testada (360 µg/mL), causou redução na motilidade, na viabilidade e no potencial de membrana mitocondrial dos espermatozoides, além de afetar a integridade do acrossomo, organela situada na região frontal da cabeça do espermatozoide, importante na produção de enzimas essenciais à sua penetração no ovócito e à fertilização. Por outro lado, a exposição ao Roundup® causou redução significativa na motilidade total dos espermatozoides em todas as concentrações testadas e redução na motilidade progressiva dos espermatozoides em concentrações iguais ou superiores à concentração equivalente de glifosato de 25 µg/mL, após apenas 1 hora de incubação, e, a partir da concentração equivalente 5 µg/mL de glifosato, após as 3 horas de incubação, demonstrando que os efeitos são concentração-dependente. Os autores também mostraram que a exposição ao Roundup® causou diminuição na

viabilidade, no potencial de membrana mitocondrial e na integridade do acrossomo dos espermatozoides, efeitos também observados em concentrações equivalentes ao glifosato menores, o que indica uma maior toxicidade da formulação comercial Roundup® em relação ao seu princípio ativo isolado. Além disso, Nerozzi e colaboradores propõe que as alterações observadas na motilidade dos espermatozoides podem estar relacionadas com a perturbação mitocondrial, concordando com o estudo realizado com sêmen humano (ANIFANDIS et al., 2018b; NEROZZI et al., 2020). Dados na literatura mostram que o Roundup® é capaz de diminuir a atividade do complexo II mitocondrial em linhagens de células de Sertoli de camundongos, com efeitos mais tóxicos do que o glifosato isolado (VANLAEYS et al., 2018). Outros estudos, em diferentes modelos experimentais vem mostrando uma maior toxicidade de HBG em relação ao herbicida isolado (ANIFANDIS et al., 2018b; DE LIZ OLIVEIRA CAVALLI et al., 2013; GORGA et al., 2020; OWAGBORIAYE et al., 2017; VANLAEYS et al., 2018), indicando que outros compostos presentes nas formulações comerciais podem ter impacto sobre a saúde. Como comentado anteriormente, o POEA é considerado de 2 a 3 vezes mais tóxico que o glifosato, indicando que o produto formulado possui toxicidade maior que o glifosato isolado (WILLIAMS; KROES; MUNRO, 2000; MESNAGE; BERNAY; SÈRALINI, 2013; SRIBANDITMONGKOL et al., 2012; ELSHENAWY, 2009).

Estudos *in vivo* também mostram o efeito tóxico do glifosato e HBG sobre a motilidade de espermatozoides. Em porquinhos da Índia tratados com 186, 280 e 560 mg/kg de HBG (WILLOSATE®), equivalente a 67, 103 e 202 mg/kg de glifosato, respectivamente, por via oral durante 60 dias, foi observada redução significativa na motilidade, na viabilidade e concentração dos espermatozoides, de maneira dependente da dose (MUTWEDU et al., 2021). Resultados semelhantes foram também relatados anteriormente por Owagboriaye et al. (2017) em ratos albinos machos expostos oralmente por 12 semanas a 0,01, 0,14 e 0,69 mL/kg/dia de Roundup® (correspondendo a uma dose de glifosato de 3,6, 50,4 e 248,4 mg/kg/dia, respectivamente) (OWAGBORIAYE et al., 2017).

O estudo realizado por Owagboriaye e colaboradores foi desenhado para avaliar os hormônios reprodutivos, a morfologia do esperma, contagem e motilidade do esperma,

sistema de defesa antioxidante testicular e estrutura arquitetônica dos testículos de ratos albinos expostos ao Roundup®. Sobre os efeitos na motilidade, o estudo demonstrou redução significativa em comparação ao grupo controle, concordando com os estudos descritos anteriormente. Além da redução na motilidade, foi também observada redução na contagem de espermatozoides, alterações morfológicas nos espermatozoides, bem como nos testículos dos animais expostos ao HBG. Os autores propõe que essas alterações podem estar relacionadas à indução de estresse oxidativo pelo Roundup®. De fato, a exposição ao Roundup® causou alterações em parâmetros de estresse oxidativo nos testículos dos ratos como diminuição nos níveis de glutathiona (GSH), redução na atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx), além de um aumento na concentração de malondialdeído (MDA), um marcador de peroxidação lipídica (OWAGBORIAYE et al., 2017).

Os outros parâmetros avaliados no estudo de Owagboriaye et al. realizado em 2017, indicaram que os níveis de testosterona, hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) foram reduzidos significativamente pela exposição ao Roundup®, enquanto a prolactina encontrada no sangue dos ratos testados teve um grande aumento, efeito que pareceu ser dependente da dose utilizada. O autor propôs que a redução nos níveis de testosterona observada nos ratos expostos pode ser por conta do impacto negativo do glifosato na formulação Roundup®, que pode afetar o número e a função das células de Leydig ou intersticiais, já que essas células são o local de produção e secreção desse hormônio (ZITZMANN, 2008). Já a redução nos hormônios FSH e LH pode estar relacionada com à alteração do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo, porém esse parâmetro não foi analisado pelo estudo (OWAGBORIAYE et al., 2017). Em conjunto, os dados deste estudo mostram que a exposição ao Roundup® é capaz de causar um gama de efeitos negativos no sistema reprodutivo de ratos machos.

No estudo realizado por Dai et al. em 2016, ratos machos foram expostos, por via oral, ao glifosato isolado nas doses de 5, 50 e 500 mg/kg, durante 5 semanas. Os resultados demonstraram que a contagem total de espermatozoides, diminuiu em comparação com o grupo controle, na dose de 500 mg/kg de glifosato, enquanto que as

concentrações de testosterona, progesterona e estradiol apresentaram uma tendência de diminuição com o tratamento de glifosato de forma dependente da dose, porém sem alteração significativa. Além disso, a exposição ao glifosato isolado não causou alterações em parâmetros de estresse oxidativo e nem afetou a morfologia testicular da vesícula seminal e do epidídimo. Neste estudo realizado por Dai et al., ao contrário do estudo de Owagboriaye e colaboradores, o qual mostrou alterações hormonais, morfológicas e estresse oxidativo em ratos expostos ao Roundup®, não foram observadas essas alterações na exposição ao glifosato isolado, mesmo em doses maiores do herbicida (DAI et al., 2016). É claro que o tempo de exposição, menor no segundo estudo pode ser uma explicação para essa discrepância nos resultados entre os dois estudos, porém uma menor toxicidade do glifosato em relação ao Roundup®, como mencionado anteriormente, não pode ser descartada.

Por outro lado, o estudo realizado por Romano e colaboradores mostrou resultados contrários ao estudo de Owagboriaye et al., em relação os efeitos do Roundup® sobre os hormônios reprodutivos, em um modelo *in vivo* em ratos. Neste estudo, ratas prenhes foram expostas ao Roundup® (2,5 mL/kg, equivalente a 50 mg/kg de glifosato), por via oral, no período gestacional e na lactação (do dia gestacional 18 até o dia pós-natal 5) e os filhotes machos foram avaliados no dia pós-natal 60. Os resultados mostram que houve aumento na produção de testosterona, estrogênio, LH e FSH nos grupos expostos ao Roundup® no período perinatal (ROMANO et al., 2012). As diferenças nos níveis de estrogênio sérico podem ser específicas da espécie, devido ao aumento do nível de expressão da gonadotrofina e falha na interpretação do mecanismo de feedback negativo na dose mais elevada. Essas alterações causaram uma hipersecreção de andrógenos e aumento da atividade gonadal e produção de esperma, assim como latência na libido, resultando em mudanças comportamentais nos machos (ROMANO et al., 2012).

Perturbações na regulação hormonal durante o período pré-natal e nos períodos neonatais podem induzir efeitos adversos no sistema reprodutivo masculino (PALANZA et al. 2016). De acordo com o estudo de Romano et al. realizado no ano de 2012, a exposição à GBH (Roundup®) durante a gravidez e a lactação afeta os níveis séricos de testosterona e os parâmetros dos espermatozoides além das mudanças no

comportamento sexual da prole (ROMANO et al. 2012). Pham et al. (2019) também avaliou o efeito da exposição no período perinatal, assim como o autor anterior, porém o estudo foi realizado em camundongos e as doses utilizadas foram de 0,5, 5 e 50 mg/kg/dia de glifosato ou Roundup® diluído na água de beber, entre o dia gestacional 10,5 e o dia pós-natal 20. Os resultados encontrados demonstraram redução nos níveis séricos de testosterona e redução no número de espermatozoides, contrariando o estudo de Romano e colaboradores. O autor sugeriu que a diminuição nos níveis de testosterona não poderia ser explicada pela alteração da atividade da enzima aromatase, codificada pela Cyp19a1, que transforma a testosterona em estradiol mas poderia ser explicada pelo efeito tóxico do glifosato na regulação endócrina do eixo hipotálamo-hipófise, ou até por indução de estresse oxidativo (PHAM et al., 2019).

Alguns estudos também tem mostrado o efeito tóxico do glifosato sob as células de Sertoli (DE LIZ OLIVEIRA CAVALLI et al., 2013; GORGA et al., 2020; VANLAEYS et al., 2018). Essas células têm duas funções essenciais para a espermatogênese, que são o fornecimento de nutrientes às células germinativas e a manutenção de um microambiente favorável para a espermatogênese. Portanto, pode-se prever que uma alteração no metabolismo das células de Sertoli pode levar a uma perturbação no desenvolvimento normal das células germinativas. Um estudo realizado com cultivo primário de células de Sertoli de ratos tratados com 10 e 100 ppm de Glifosato e Roundup®, por 48 h, mostrou que esses toxicantes podem causar alteração na integridade da barreira hemato-testicular das células de Sertoli, aumentando a sua permeabilidade (GORGA et al., 2020). As células de Sertoli fornecem às células germinativas um microambiente adequado para a espermatogênese, o qual é sustentado pela barreira hemato-testicular, cujo principal componente dessa barreira são as junções estreitas entre as células de Sertoli adjacentes. A manutenção da integridade desta barreira é importante na regulação da entrada de nutrientes, bem como de substâncias tóxicas que podem impactar na espermatogênese (CHENG et al., 2011; CHENG; MRUK, 2012).

Outro mecanismo envolvido na toxicidade do glifosato refletida nas células de Sertoli é a disfunção mitocondrial na linhagem TM4. Vanlaeys et al. (2018) avaliou esse parâmetro em cultura de células de Sertoli TM4 de camundongos tratadas com 10 –

10.000 ppm de Glifosato e HBGs (Roundup® e Glyphogan), durante 24 h. Os resultados mostraram disfunção mitocondrial nas células TM4, principalmente com a utilização de HBG, interrupção dos sistemas de desintoxicação celular, acúmulo de gotículas de lipídeos e aumento da mortalidade celular em doses sub-agrícolas dos toxicantes. Vanlaeys propõe que as formulações comerciais são mais tóxicas do que o glifosato isolado e também devem ser considerados como princípios ativos de herbicidas, pois o acúmulo de adjuvantes etoxilados, como o POE-15, nas gotículas de lipídios celulares levaram à mortalidade celular. Como já comentado anteriormente, as células de Sertoli são essenciais para o desenvolvimento testicular e o início normal da espermatogênese, distúrbios da sua função por HBGs podem contribuir para a interrupção das funções reprodutivas (VANLAEYS et al., 2018).

Estudos anteriores ao de Vanlaeys et al. (2018) já vinham mostrando que as formulações de herbicidas à base de glifosato são potencialmente tóxicas para as células de Sertoli. No estudo realizado por de Liz Oliveira Cavalli et al. em 2013, foram investigados os mecanismos de toxicidade do HBG Roundup®, com foco na homeostase do Ca^{2+} , desregulação de vias de sinalização e dano oxidativo em testículos e em cultivos primários de células de Sertoli de ratos. Os resultados deste estudo mostram que a exposição aguda de testículos de ratos ou de cultivos primários de células de Sertoli a uma baixa concentração de Roundup® (36 ppm), durante 30 minutos, causou diminuição no influxo de Ca^{2+} e aumento na liberação de lactato desidrogenase (LDH), um marcador de morte celular. Além disso, a exposição ao Roundup® também causou estresse oxidativo. É importante destacar que essas alterações foram observadas com uma concentração do herbicida bem abaixo da utilizada para aplicação na agricultura, a qual corresponde a 10 000 a 20 000 ppm.

Os autores propõem que a exposição aguda a baixas concentrações do HBG, induz aumento do influxo de Ca^{2+} mediado por canal de cálcio dependente da voltagem tipo L (L-VDCC) e morte celular. O cálcio pode entrar na célula através dos canais da membrana plasmática após um sinal extracelular ou ser liberado do retículo endoplasmático para o citosol em resposta a mensageiros intracelulares. Um desequilíbrio nesses eventos pode levar à sobrecarga de Ca^{2+} , o que pode desencadear estresse oxidativo e a morte celular. Assim, os autores sugerem um papel

principal para o glifosato na toxicidade do Roundup® em testículos de ratos, sem descartar, no entanto, um possível papel do tensoativo POEA na toxicidade da formulação comercial do herbicida (DE LIZ OLIVEIRA CAVALLI et al., 2013).

Diversos estudos recentes vem mostrando que os agrotóxicos são capazes de causar alterações nas funções reprodutivas em diferentes modelos animais (ANIFANDIS et al., 2018a; MUTWEDU et al., 2021; CAI et al., 2017; DAI et al., 2016; DE LIZ OLIVEIRA CAVALLI et al., 2013; GORGA et al., 2020; JARRELL; AHAMMAD; BENSON, 2020; NEROZZI et al., 2020; OWAGBORIAYE et al., 2017; PHAM et al., 2019; ROMANO et al., 2012; VANLAEYS et al., 2018). Nesta revisão, foram analisados 12 estudos em mamíferos que mostraram os impactos da exposição ao glifosato ou HBG sobre o sistema reprodutivo de machos. De uma maneira geral, esses estudos mostraram alterações hormonais, redução na motilidade, viabilidade e concentração de espermatozoides, bem como, alterações estruturais em células de Sertoli isoladas ou testículos. Alguns desses estudos mostraram efeitos tóxicos mais pronunciados dos HBGs em relação ao glifosato isolado (ANIFANDIS et al., 2018b; GORGA et al., 2020; OWAGBORIAYE et al., 2017b; VANLAEYS et al., 2018). Levando em consideração a gama de estudos já realizados e os efeitos deletérios já relatados na literatura, além do fato de que o glifosato está em primeiro lugar no ranking de agrotóxicos mais utilizados no mundo, os avanços nas pesquisas sobre os efeitos tóxicos do glifosato e HBGs sobre o sistema reprodutivo de machos são de grande importância para a população mundial.

5.2 Toxicidade do glifosato e HBG no sistema reprodutivo de fêmeas.

Como comentado anteriormente, diversos estudos tem demonstrado o efeito tóxico do glifosato sob o sistema reprodutivo de mamíferos, a grande maioria desses estudos avaliaram a toxicidade do herbicida em machos, porém poucos estudos avaliaram os efeitos reprodutivos do glifosato em fêmeas (FU et al., 2021; LORENZ et al., 2019; REN et al., 2018; YAHFOUFI et al., 2020; ZHANG; XU; FENG, 2019). Muitos dos mecanismos pelos quais a exposição ao glifosato ou HBGs afeta o trato reprodutivo de fêmeas não são conhecidos, e os poucos estudos a respeito desse assunto foram

realizados *in vitro*, sendo a maioria irreprodutíveis em testes *in vivo* (INGARAMO et al., 2020).

Em relação à toxicidade reprodutiva de HBGs em fêmeas, para esse trabalho de revisão foram selecionados 5 artigos experimentais, listados no quadro 2. Os efeitos no trato reprodutivo de fêmeas encontrados foram, principalmente, alterações nos hormônios reprodutivos e no processo da ovogênese.

Quadro 2 – Dados dos artigos selecionados e os principais efeitos deletérios encontrados no sistema reprodutivo de fêmeas.

Primeiro Autor/Ano da publicação	Título do artigo	País de origem	Tipo de estudo	Espécie animal/ Amostra biológica analisada	Protocolo experimental	Efeitos deletérios
Fu H, et al. (2021)	Effects of glyphosate-based herbicide-contaminated diets on reproductive organ toxicity and hypothalamic-pituitary-ovarian axis hormones in weaned piglets	China	<i>In vivo</i>	Suínos	Exposição ao Roundup na dieta, em doses equivalentes a 10, 20, e 40 mg kg/kg de glifosato.	Alterações histopatológicas no útero e ovários, estresse oxidativo e alterações hormonais.
Lorenz V, Et al. (2019)	Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats.	Argentina	<i>In vivo</i>	Ratos	Exposição a HBG (MAGNUM SUPER II; 66,2 % de glifosato), correspondendo a uma dose de 350 mg/kg de glifosato na dieta, do DG 9 até o DPN 21	Aumentou o mRNA do receptor de estrogênio alfa (ER α).
Ren X, Et al. (2018)	Effects of glyphosate on the ovarian function of pregnant mice, the secretion of hormones and the sex ratio of their fetuses.	China	<i>In vivo</i>	Camundongos	0,5% de glifosato ou Roundup, na água de beber, do DG 1 ao DG 19.	Alterações histopatológicas ovarianas, desequilíbrios hormonais e estresse oxidativo, alterações na expressão de genes relacionados à esteroidogênese, resultando em alterações na secreção de progesterona e estrogênio nos animais prenhes.

Yahfoufi ZA, Et al. (2020)	Glyphosate induces metaphase II oocyte deterioration and embryo damage by zinc depletion and overproduction of reactive oxygen species.	EUA	<i>In vitro</i>	Oócitos e embriões de camundongos	50 a 300µM de glifosato.	Alteração na qualidade dos oócitos, estresse oxidativo, depleção de zinco, e dano embrionário.
Zhang JW, Et al. (2019)	The toxic effects and possible mechanisms of glyphosate on mouse oocytes.	China	<i>In vitro</i>	Cultivo de oócitos de camundongos	50, 100, 200 ou 500 uM de glifosato.	Dano ao DNA, estresse oxidativo e dano mitocondrial, o que levou à apoptose celular e autofagia.

Fonte: A autora, 2021.

Legenda: DG: dia gestacional; DPN: dia pós-natal; v.o.: via oral.

O estudo realizado por Ren et al. no ano de 2018, avaliou a função reprodutiva de camundongos prenhes expostas, por via oral, a 0,5% de glifosato ou Roundup® na água de beber, do dia gestacional 1 ao 19. Os animais foram avaliados ao final do protocolo de exposição, no dia gestacional 19. Os resultados encontrados incluem diminuição no peso dos ovários dos camundongos fêmeas expostas tanto ao glifosato isolado quanto ao Roundup®. Além disso, nos ovários foram também observadas alterações histopatológicas como aumento nos folículos atrésicos, redução no número de folículos ovarianos maduros, proliferação excessiva de fibroblastos e deposição de matriz extracelular nos animais expostos ao glifosato ou ao Roundup®. Com relação a efeitos hormonais houve redução na concentração de progesterona sérica, tanto nos animais expostos ao glifosato quanto ao Roundup® e aumento na concentração de estrogênio sérico nos animais expostos ao glifosato isolado. Além disso, os autores também observaram um aumento na expressão de LH e FSH, e aumento na expressão do gene do receptor de LH e redução na expressão do gene do receptor de FSH nos ovários dos animais. Além desses efeitos, foi também observada redução na atividade da enzima antioxidante CAT e aumento na peroxidação lipídica nos ovários, indicando estresse oxidativo. Vale ainda comentar que dois animais prenhes expostas a 0,5% de solução de glifosato sofreram aborto e três expostas a 0,5% de solução Roundup® tiveram gestações malsucedidas devido a distocia e parto prematuro (uma morreu no parto e as outras duas deram à luz cedo e comeram seus filhotes), a redução nos níveis de progesterona e o aumento de estrogênio pode estar relacionado com esses efeitos.

O autor propõe que o distúrbio do metabolismo energético interno causado pelo glifosato pode ser a razão pela qual o desempenho do crescimento foi limitado. Além disso, a causa proposta para a atresia folicular, que é um processo de apoptose, está relacionada com a diminuição dos receptores de gonadotrofina, como expressão do gene FSHR reduzida, que pode diminuir o número de folículos maduros observados (REN et al., 2018).

Outro estudo realizado com suínos tratados com o HBG Roundup® em doses equivalentes a 10, 20 e 40 mg/kg de glifosato, administrados por via oral durante a alimentação, mostrou alguns resultados semelhantes aos encontrados por Ren e colaboradores (FU et al., 2021). Nas análises histopatológicas, os autores observaram dano tecidual no útero e nos ovários dos animais expostos ao HBG. Com o aumento da concentração de glifosato, o tecido uterino apresentou características de tecido conjuntivo indistinto, aumento de linfócitos e até mesmo necrose das células musculares e atrofia das glândulas internas. Além disso, após exposição ao herbicida, os ovários gradualmente mostraram atrofia folicular, vasodilatação, deposição de gordura e calcificação celular. Os resultados também indicaram estresse oxidativo, através do aumento de marcadores de peroxidação lipídica e redução na atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx, alterações que podem estar relacionadas com o dano tecidual observado no estudo. Além disso, os níveis de hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH), hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e testosterona aumentaram significativamente, e os níveis do hormônio folículo estimulante (FSH) foram significativamente reduzidos. Vale ressaltar que essas alterações foram observadas na dose de 20 mg/kg de glifosato, a qual corresponde ao limite de resíduos do herbicida permitido pelo *Codex Alimentarius* (CODEX), uma organização internacional que estabelece regras sobre segurança alimentar, como por exemplo, a quantidade de resíduos permitidos para pesticidas e outras substâncias tóxicas em alimentos.

Lorenz et al. (2019) avaliou a função reprodutiva em testes com ratas grávidas, assim como Ren et al., porém o parâmetro avaliado foi a alteração na regulação transcricional do gene do receptor de estrogênio alpha (ER α) no útero das ratas durante o período de pré-implantação, visto que o ER α uterino tem papel fundamental na

implantação embrionária. Análises *in vitro* e *in silico* recentes revelaram que o glifosato é capaz de ativar ER α (MESNAGE et al. 2017). Além disso, em estudos prévios foi demonstrado que a exposição perinatal à HBG aumenta a taxa de perdas de embriões no período de pré-implantação (MILESI et al., 2018).

No estudo de Lorenz e colaboradores realizado em 2019, ratas prenhes foram tratadas por via oral com HBG em uma dose equivalente a 350 mg/kg de glifosato, através da alimentação, do dia gestacional 9 até o desmame dos filhotes. Posteriormente, os filhotes fêmeas, no dia pós-natal 90, foram acomodadas com ratos machos e, após a confirmação da prenhes, foram analisadas no dia gestacional 5 (período de pré-implantação). Os resultados demonstraram que a exposição ao HBG aumentou a expressão do mRNA do gene do ER α no útero das ratas expostas ao herbicida, em relação aos animais controle. Esse efeito foi associado a alterações epigenéticas como diminuição na metilação do DNA, bem como modificações nos padrões de acetilação de histonas, eventos que podem culminar com prejuízos na implantação de embriões induzidos pelo glifosato. Esses dados indicam que a exposição a HBG causa alterações reprodutivas em ratas adultas expostas ao herbicida durante o período gestacional e na lactação.

Estudos realizados *in vitro*, avaliaram o efeito do toxicante glifosato no desenvolvimento do oócito, além de dano embrionário e estresse oxidativo (YAHFOUFI et al., 2020; ZHANG; XU; FENG, 2019). Para avaliar o desenvolvimento do oócito, Zhang et al. coletou oócitos de camundongos fêmeas após promover a superovulação com aplicação de gonadotrofina sérica. Os oócitos foram cultivados em meio de cultura e expostos ao glifosato em uma concentração final de 50, 100, 200 ou 500 μ M. O estudo revelou que os oócitos tiveram taxas reduzidas de quebra da vesícula germinativa (GVBD) e primeira extrusão de corpo polar (PBE) após tratamento com 500 μ M de glifosato, o que indica que o desenvolvimento do oócito estaria comprometido. Além disso, foi observado um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, além de aumento na expressão de genes de enzimas antioxidantes como CAT, SOD e GPx, esse efeito leva a estresse oxidativo e dano celular, podendo causar autofagia e apoptose celular. Após 14 h de exposição ao glifosato, oócitos de camundongo em metafase II (MII) exibiram uma morfologia anormal do fuso e quebras de fita dupla de

DNA. Além disso, os resultados experimentais mostraram que após a exposição ao glifosato, a expressão da proteína p-MAPK, que é uma proteína regulada envolvida na montagem de microtúbulos e na montagem do fuso mitótico, diminuiu. Por conta disso, os autores propõe que o glifosato afetou a formação do fuso, por alterar a expressão da proteína p-MAPK e conseqüentemente prejudicando a maturação do oócito (ZHANG; XU; FENG, 2019).

Em concordância com os resultados encontrados no estudo de Zhang et al (2019), outro estudo realizado *in vitro* por Yahfoufi et al. (2020) mostrou deterioração de oócitos de camundongos, porém por mecanismos de estresse oxidativo e depleção de zinco. A exposição dos oócitos ao glifosato causou alterações na morfologia dos microtúbulos, aumento na geração de espécies reativas de oxigênio e depleção de zinco. Efeitos semelhantes foram também observados em embriões expostos ao herbicida. Esses efeitos da exposição ao glifosato podem contribuir para o comprometimento na fertilidade de fêmeas. Em conjunto, esses estudos *in vitro* recentes mostram possíveis mecanismos de ação do glifosato sobre o sistema reprodutivo de fêmeas, mostrando que a exposição ao herbicida pode afetar a saúde reprodutiva de fêmeas.

6. Conclusão

Os avanços nas pesquisas sobre os efeitos tóxicos do glifosato e HBGs são de grande interesse para a população mundial, visto que é o herbicida mais utilizado em anos. De acordo com a literatura revisada neste artigo, tanto o glifosato quanto as suas formulações comerciais parecem atuar como tóxicos reprodutivos. Efeitos deletérios foram encontrados em fêmeas e machos tratados com doses variadas do herbicida em diferentes modelos experimentais em mamíferos. Estudos realizados *in vivo* e *in vitro* encontraram efeitos como desregulação endócrina, dano ao DNA, alteração na morfologia de gametas femininos e masculinos, redução na motilidade e concentração dos espermatozoides, assim como estresse oxidativo e disfunção na gametogênese. Os estudos *in vitro* apontaram possíveis mecanismos de toxicidade do herbicida e de suas formulações comerciais, o que pode contribuir para o entendimento de como esses compostos afetam o sistema reprodutivo de mamíferos.

É importante mencionar que a maioria dos estudos revisados utilizaram concentrações do toxicante consideradas baixas. Os efeitos deletérios à saúde relatados pela exposição ao glifosato, tanto em sua forma pura quanto em formulações comerciais, devem ser levados em consideração pelas agências reguladoras, para que assim se estabeleçam melhores critérios sobre o uso seguro desta substância, avaliar novos métodos de produção e para adaptar estratégias de prevenção dos possíveis impactos do agrotóxico para a saúde. Embora muitos efeitos tóxicos já foram demonstrados em modelos experimentais, mais estudos são necessários para esclarecer os possíveis efeitos do glifosato na saúde reprodutiva humana.

6. Referências

- ALMEIDA, W. DE et al. **Agrotóxicos. Cadernos de Saúde Pública**, v. 1, n. 2, p. 220–249, jun. 1985.
- ANDRADES, T.O., GANIMI R. N. **Revolução Verde e a Apropriação Capitalista**. Juiz de Fora, 2007. CES Revista, v.21.
- ANIFANDIS, G. et al. **The In Vitro Impact of the Herbicide Roundup on Human Sperm Motility and Sperm Mitochondria**. 2018.b
- ANIFANDIS, G. et al. **The Effect of Glyphosate on Human Sperm Motility and Sperm DNA Fragmentation**. 2018.a
- AKERMAN, G. et al. **Glyphosate - EDSP: Weight of Evidence Analysis of Potential Interaction with the Estrogen Interaction with the Estrogen, androgen, or Thyroid Pathways**. 2015.
- BRASIL. **Lei n. 7.802**, de 12 de julho de 1989 (lei federal dos agrotóxicos). Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm> Acesso em: 24 set.2020.
- BWANA MUTWEDU, V. et al. **Growth performance and reproductive function impairment of glyphosate-based herbicide in male guinea pig (Cavia porcellus)**. 2021.
- CAI, W. et al. **Effects of glyphosate exposure on sperm concentration in rodents: A systematic review and meta-analysis**. Environmental Toxicology and Pharmacology Elsevier B.V., 1 out. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2017.07.015>>. Acesso em: 16 abr. 2021
- CARNEIRO, L.C. et al. **Dossiê ABRASCO (Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde). Agrotóxicos, segurança alimentar e saúde**, Rio de Janeiro/São Paulo. p. 88, nov. 2012.
- CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. [traduzido por Claudia Sant'Anna Martins]. 1ª Edição, São Paulo, Ed. Gaia, 2010.
- CHENG, C. Y. et al. **Environmental toxicants and male reproductive function. Spermatogenesis**, v. 1, n. 1, p. 2–13, jan. 2011.
- DAI, P. et al. **Effect of glyphosate on reproductive organs in male rat**. Acta Histochemica, v. 118, n. 5, p. 519–526, 1 jun. 2016.
- DE ARAÚJO-RAMOS, A. T. et al. **Controversies on Endocrine and Reproductive Effects of Glyphosate and Glyphosate-Based Herbicides: A Mini-Review. Frontiers in Endocrinology**, v. 12, p. 160, 15 mar. 2021.

DE LIZ OLIVEIRA CAVALLI, V. L. et al. **Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells.** *Free Radical Biology and Medicine*, v. 65, p. 335–346, 2013.

DE MELO ABREU, M. **ESTUDO DOS EFEITOS TÓXICOS DA FORMULAÇÃO COMERCIAL DO HERBICIDA GLIFOSATO SOBRE CÉLULAS-TRONCO DERIVADAS DE TECIDO ADIPOSE HUMANO.** 2015 (Dissertação de mestrado)

DIAS, A. P. et. al. **Agrotóxicos e Saúde. Série Fiocruz - Documentos Institucionais - Coleção Saúde, Ambiente e Sustentabilidade.** Fundação Oswaldo Cruz. Vol 2. Rio de Janeiro. 2018.

EL-SHENAWY, N. S. **Oxidative stress response of rats exposed to roundup and its active ingredient glyphosate.** *Environ Toxicol Pharmacol.* 28. ed. 3. p. 379-385, 2009.

FLORES, Araceli Verônica et al . **Organoclorados: um problema de saúde pública.** *Ambient. soc., Campinas* , v. 7, n. 2, p. 111-124, Dec. 2004 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-753X2004000200007&lng=en&nrm=iso>. access on 17 Nov. 2020. <https://doi.org/10.1590/S1414-753X2004000200007>.

FRACALOSI DE MORAES, R. **AGROTÓXICOS NO BRASIL: PADRÕES DE USO, POLÍTICA DA REGULAÇÃO E PREVENÇÃO DA CAPTURA REGULATÓRIA.** 2019.

FU, H. et al. **Effects of glyphosate-based herbicide-contaminated diets on reproductive organ toxicity and hypothalamic-pituitary-ovarian axis hormones in weaned piglets.** *Environmental Pollution*, v. 272, 1 mar. 2021.

GALLI, Antonio J. B; MONTEZUMA, Marcelo C; RODRIGUES, Joao Domingos; GUAGGIO, José Antonio; CHRISTOFFOLETI, Pedro Jacob. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura.** [S.l: s.n.], 2005.

GORGA, A. et al. **In vitro effects of glyphosate and Roundup on Sertoli cell physiology.** *Toxicology in Vitro*, v. 62, 1 fev. 2020.

HOSSEINI BAI, S.; OGBOURNE, S. M. **Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination.** *Environmental Science and Pollution Research*, 2016.

IARC Monographs. **Some Organophosphate Insecticides and Herbicides.** Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 112, 2017.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos.** 2019 Disponível em <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-deagrotoxicos>>. Acesso em 16 de Novembro de 2020

JARRELL, Z. R.; AHAMMAD, M. U.; BENSON, A. P. **Glyphosate-based herbicide**

formulations and reproductive toxicity in animals. *Veterinary and Animal Science*, v. 10, 1 dez. 2020.

JUNIOR et al. **Glyphosate: Properties, toxicity, use and legislation** *Quimica Nova* Sociedade Brasileira de Química, , 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000400014&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 20 nov. 2020

LAZZARI, F. M.; SOUZA, A. S. **Revolução verde: impactos sobre os conhecimentos tradicionais.** In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE DIREITO E CONTEMPORANEIDADE: MÍDIAS E DIREITOS DA SOCIEDADE EM REDE, 4., 2017, Santa Maria, RS. Anais... Santa Maria, RS: NUDI/UFSM, 2017. Disponível em: <http://www.ufsm.br/congressodireito/anais>. Acesso em: 20/11/2020.

LEVINE, S. L.; WEBB, E. G.; SALTMIRAS, D. A. **Review and analysis of the potential for glyphosate to interact with the estrogen, androgen and thyroid pathways.** 2020.

LONDRES, F. **AGROTÓXICOS NO BRASIL um guia para ação em defesa da vida.** Ed. Flavia Londres e Denis Monteiro. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.: il.; 23 cm. ISBN 978- 85-87116-15-

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. DE. **Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática.** *Saúde em Debate*, v. 42, n. 117, p. 518–534, jun. 2018.

LORENZ, V. et al. **Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats.** *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 480, p. 133–141, 15 jan. 2019.

MACHADO, Maria Olandina. **Glifosato: A Emergência de uma Controvérsia Científica Global.** 2016. 315 f. Tese (Doutorado).

Manservigi, F., Lesueur, C., Panzacchi, S. *et al.* **The Ramazzini Institute 13-week pilot study glyphosate-based herbicides administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on development and endocrine system.** *Environ Health* **18**, 15 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0453-y>

MAZOYER, M., ROUDART, L. **História das agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea.** Ministério do Desenvolvimento Agrário. São Paulo; Brasília: Ed. UNESP: NEAD, 2010.

MESNAGE, Robin; BERNAY, B.; SÉRALINI, G. E. **Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity.** *Toxicology*. n. 313. p. 122-128, 2013.

Mesnage, R., Phedonos, A., Biserni, M., Arno, M., Balu, S., Corton, J.C., Ugarte, R.,

Antoniou, M.N., 2017. **Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate- based herbicide constituents.** Food Chem. Toxicol. 108, 30–42.

M.M. Milesi, V. Lorenz, G. Pacini, M.R. Repetti, L.D. Demonte, J. Varayoud, E.H. Luque **Perinatal exposure to a glyphosate-based herbicide impairs female reproductive outcomes and induces second-generation adverse effects in Wistar rats** Arch. Toxicol., 92 (2018), pp. 2629-2643

Mutwedu VB, Nyongesa AW, Azine PC, Chiregereza DK, Ngoumtsop VH, Mugumaarhahama Y, Ayagirwe RBB. **Growth performance and reproductive function impairment of glyphosate-based herbicide in male guinea pig (*Cavia porcellus*).** Vet Med Sci. 2021 Feb 8. doi: 10.1002/vms3.443. Epub ahead of print. PMID: 33555111.

NEROZZI, C. et al. **Effects of Roundup and its main component, glyphosate, upon mammalian sperm function and survival.** Scientific Reports, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

OWAGBORIAYE, F. O. et al. **Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat.** Experimental and Toxicologic Pathology, v. 69, n. 7, p. 461–468, 5 set. 2017.

PALANZA, P.; NAGEL, S. C.; PARMIGIANI, S.; VOM SAAL, F.S. **Perinatal exposure to endocrine disruptors: sex, timing and behavioral endpoints.** Current Opinion in Behavioral Sciences, 2018 7:69-75. DOI: 10.1016/j.cobeha.2015.11.017.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. **Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema.** In: PERES, F.; MOREIRA, J. C. (Org.). É veneno ou é remédio? agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 21-41. DOI: 10.7476/9788575413173.

PHAM, T. H. et al. **Perinatal exposure to glyphosate and a glyphosate-based herbicide affect spermatogenesis in mice.** Toxicological Sciences, v. 169, n. 1, p. 260–271, 1 maio 2019.

REN, X. et al. **Effects of glyphosate on the ovarian function of pregnant mice, the secretion of hormones and the sex ratio of their fetuses.** Environmental Pollution, v. 243, p. 833–841, 1 dez. 2018.

ROMANO, M. A. et al. **Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression.** Archives of Toxicology, v. 86, n. 4, p. 663–673, abr. 2012.

SERRA, L. S. et al. **Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos.** Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB, n. 4, 2016.

SRIBANDITMONGKOL, P et al. **Pathological and toxicological findings in glyphosate-surfactant herbicide fatality: a case report.** AM J Forensic Med Pathol. 33. ed. 3. p. 234-237, 2012.

VANLAEYS, A. et al. **Formulants of glyphosate-based herbicides have more deleterious impact than glyphosate on TM4 Sertoli cells.** Toxicology in Vitro, v. 52, p. 14–22, 1 out. 2018.

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. N.31. p. 117-165, 2000.

YAHFOUFI, Z. A. et al. **Glyphosate Induces Metaphase II Oocyte Deterioration and Embryo Damage by Zinc Depletion and Overproduction of Reactive Oxygen Species.** Toxicology, v. 439, 1 jun. 2020.

ZHANG, J. W.; XU, D. Q.; FENG, X. Z. **The toxic effects and possible mechanisms of glyphosate on mouse oocytes.** Chemosphere, v. 237, 1 dez. 2019.

ZITZMANN, M. **Effects of testosterone replacement and its pharmacogenetics on physical performance and metabolism.** Asian Journal of Andrology, v. 10, n. 3, p. 364–372, 1 maio 2008.

ZOUAOUI, K. et al. **Determination of glyphosate and AMPA in blood and urine from humans: About 13 cases of acute intoxication.** Forensic Science International, v. 226, n. 1–3, 10 mar. 2013.