

Exposição materna à herbicida baseado em glifosato causa alterações em longo prazo no relaxamento vascular de ratos adultos

Maternal exposure to glyphosate-based herbicide causes long-term changes in vascular relaxation from offspring adult rats

La exposición materna al herbicida a base de glifosato provoca cambios a largo plazo en la relajación vascular en ratas adultas

Recebido: 18/11/2021 | Revisado: 27/11/2021 | Aceito: 03/12/2021 | Publicado: 14/12/2021

Mariana Luiza Rodrigues de Marins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7442-0871>
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Brasil
E-mail: ma.lu.marins18@gmail.com

Jeniffer Ailane Nunes Torres

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3983-3267>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: jeniffer.antorres@upe.br

Vivian Giselly Da Silva Moraes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5598-2334>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: vivian.moraes@upe.br

Rebeca Gonçalves Leite

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9534-5815>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: rebecaleite@gmail.com

Nâmora Carvalho Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2386-3138>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: namoracarvalho94@gmail.com

Luciano Augusto de Araújo Ribeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3140-1678>
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Brasil
E-mail: luciano.ribeiro@univasf.edu.br

Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8676-1115>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: marcosvcardoso@gmail.com

Fabrcio Souza Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6394-6501>
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Brasil
E-mail: fabrcio.souzasilva@univasf.edu.br

Diego Barbosa de Queiroz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8129-720X>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: diego.queiroz@upe.br

Resumo

Este estudo se propôs a investigar se a exposição ao herbicida baseado em glifosato durante a fase gestacional promove efeitos em longo prazo sobre a função vasomotora da aorta torácica e o possível envolvimento de estresse oxidativo e da ciclooxigenase II nessas alterações. Para isso foram avaliadas em banho de órgãos isolados, o relaxamento dependente e independente do endotélio de anéis aórticos de ratos provenientes de mães tratadas com glifosato na fase materna (O-GHB) e controle (O-CON) e para os possíveis mecanismos se utilizou ferramentas farmacológicas como L-NAME, TEMPOL e Indometacina. Como resultados foi observado um prejuízo no relaxamento vascular relacionado a uma disfunção endotelial nos ratos O-GHB. Essa disfunção endotelial foi revertida quando os anéis de aorta estavam em presença do mimético da superóxido dismutase e da COX-2, corroborando com a hipótese de que efeitos adversos durante a fase intrauterina, como o estresse oxidativo causado pelo glifosato, pode acarretar em alterações tardias na função de alguns órgãos, no caso aqui estudado na reatividade vascular em aorta.

Palavras-chave: Glifosato; Reatividade vascular; Estresse oxidativo; Programação fetal.

Abstract

This study aimed to investigate whether exposure to glyphosate-based herbicide during the gestational phase promotes long-term effects on the vasomotor function of the thoracic aorta and the possible involvement of oxidative stress and cyclooxygenase II in these alterations. For this, in a isolated organ bath, the endothelium-dependent and independent relaxation of aortic rings of rats from mothers treated with glyphosate in the maternal phase (O-GHB) and tap water the control group (O-CON) were evaluated. Pharmacological tools such as L-NAME, TEMPOL and Indomethacin were used for investigate possible mechanisms. As a result, an impairment in vascular relaxation related to an endothelial dysfunction in O-GHB rats was observed. This endothelial dysfunction was reversed when the aortic rings were in the presence of superoxide dismutase and COX-2 mimetic, supporting the hypothesis that adverse effects during the intrauterine phase, such as oxidative stress caused by glyphosate, can lead to late changes in the function of some organs, in the case studied here, in vascular reactivity in the aorta.

Keywords: Glyphosate; Vascular reactivity; Oxidative stress; Fetal Programming.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo investigar si la exposición a herbicidas a base de glifosato durante la fase gestacional promueve efectos a largo plazo sobre la función vasomotora de la aorta torácica y la posible participación del estrés oxidativo y la ciclooxigenasa II en estas alteraciones. Para ello, se evaluó la relajación dependiente e independiente del endotelio de los anillos aórticos de ratas de madres tratadas con glifosato en fase materna (O-GHB) y control (O-CON) en un baño de órganos aislados. Para analizar posibles mecanismos fármacos como L-NAME, TEMPOL e Indometacina fueron usados. Como resultado, se observó una alteración en la relajación vascular relacionada con una disfunción endotelial en ratas O-GHB. Esta disfunción endotelial se revirtió cuando los anillos aórticos estaban en presencia de superóxido dismutasa y mimético de COX-2, apoyando la hipótesis de que los efectos adversos durante la fase intrauterina, como el estrés oxidativo causado por el glifosato, pueden conducir a cambios tardíos en la función de algunos órganos, en el caso aquí estudiado, en reactividad vascular en la aorta.

Palabras clave: Glifosato; Reactividad vascular; Estrés oxidativo; Programación fetal.

1. Introdução

Os agrotóxicos ou pesticidas são uma das poucas substâncias tóxicas liberadas deliberadamente no meio ambiente para matar organismos vivos, por exemplo, ervas daninhas (herbicidas), insetos (inseticidas), fungos (fungicidas) e roedores (rodenticidas) (WHO, 1990). Apresentam amplo uso podendo ser utilizados na saúde pública para o controle de vetores de doenças (malária e dengue), plantas indesejadas em paisagismo de parques e jardins, na indústria para suprimir ou evitar a proliferação de insetos, pragas, bactérias, fungos e algas em equipamentos elétricos e em materiais de embalagem de alimentos, e sobretudo, nas atividades agrícolas onde encontra-se o maior consumidor dessas substâncias, com cerca de 85% da produção mundial usando para controle químico das várias pragas que atingem as mais variadas culturas (Gilden et al., 2010)

Atualmente, o Brasil se encontra como o maior importador e consumidor mundial de agrotóxicos pelo oitavo ano consecutivo alcançando um número superior a quinhentas toneladas de ingredientes ativos utilizados por ano, nos quais, observa-se as maiores concentrações da utilização desses agroquímicos em monoculturas de soja, milho, cana, cítricos, algodão, uva e arroz (ANVISA, 2012; IBAMA, 2016). Nesse contexto, merece destaque o herbicida Glifosato Roundup®, como o mais consumido no Brasil com 195 056 toneladas comercializados em 2018, composto majoritariamente de glifosato (sal de isopropilamina de glifosato) como ingrediente ativo, polioxietilamina (POEA) como surfactante na fórmula comercial e outras substâncias usadas para auxiliar na estabilidade e penetração do pesticida na planta (Relyea, 2005).

O glifosato pertence à classe dos organofosforados e ao grupo químico das glicinas substituídas, com o nome químico de N-(fosfonometil) glicina, seu mecanismo de ação é caracterizado pela inibição específica da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase, essencial na biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais para as células vegetais, fungos e algumas bactérias (de Amarante Junior et al., 2002). Como essa via não é encontrada em insetos, aves, peixes, mamíferos, tornou-se uma das alegações para seu presumível baixo risco à saúde humana, e continuidade de sua utilização nas lavouras (Anadón et al., 2009) Contudo, resultados de pesquisas realizadas com glifosato e/ou suas formulações e seus efeitos sobre a saúde humana, tem gerado controvérsias no meio científico (Cattani et al., 2017; de Liz Oliveira Cavalli et al., 2013;

Kimmel et al., 2013), seus resíduos são frequentemente encontrados no meio ambiente (solo, água e alimentos), mas pouco se sabe sobre o impacto de doses sub-letais do glifosato na saúde humana e no meio ambiente e, embora haja medidas estabelecidas para seu uso seguro, seus padrões atuais de segurança têm sido questionados no mundo todo.

Evidências científicas demonstram que a exposição a formulações comerciais a base de glifosato resulta em estresse oxidativo (Cattani et al., 2017; Milić et al., 2018), alteração no ciclo celular (Marc et al., 2004), na cadeia transportadora de elétrons (Pereira et al., 2020), genotoxicidade (Mesnage et al., 2013), dano hepático (Larsen et al., 2014), desregulação endócrina (Hass et al., 2012), além de correlação com doenças neurodegenerativas (Wang et al., 2011), excitotoxicidade glutamatérgica (Cattani et al., 2017) e alterações no comportamento (Ait-Bali et al., 2020; Pu et al., 2020).

No sistema cardiovascular, é bem descrito na literatura que pesticidas pertencentes a mesma classe química do glifosato, os organofosforados, levam a alterações das propriedades mecânicas da artéria aorta devido a degeneração das fibras colágenas e de elastina da parede vascular (Yavuz et al., 2005), aumento da pressão arterial sistólica e diastólica (Warembourg et al., 2019), arritmias (Gress et al., 2015), peroxidação lipídica (Larsen et al., 2012), redução da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) resultado do desbalanço REDOX pelo aumento de ânion superóxido e peróxido nítrico que implica em prejuízo da função endotelial pela predominância dessas espécies reativas de oxigênio (EROs) (Casares & Mantione, 2006; Yavuz et al., 2005). No que se refere aos efeitos do glifosato poucos são os estudos, com Song et al. (2014) demonstrando em células cardíacas de rato que a exposição ao glifosato em baixas doses promovia dano mitocondrial e induzia apoptose e necrose. Em outro estudo, Daruich et al. (2001) mostrou inativação de enzimas como isocitrato desidrogenase e glicose-6-fosfato desidrogenase em coração isolado de ratas wistar e de seus fetos após tratamento por 21 dias com glifosato na água de beber e Chan et al. (2007) demonstrando redução do relaxamento em aorta de ratos quando incubadas diretamente com o glifosato no banho de órgãos. Entretanto, não existem estudos que tenham avaliado especificamente os efeitos da exposição crônica ao glifosato sobre a reatividade vascular, alterações do balanço REDOX tecidual em artérias e sua possível relação com o surgimento de doenças cardiovasculares.

Adicionalmente, o conceito de chamado de *fetal programming* (“programação fetal”) sugere que o feto pode ser programado durante o desenvolvimento intrauterino para desenvolver doenças na vida adulta, e tem sido utilizado como uma das bases para o conhecimento da origem de algumas doenças crônicas, como é o caso das doenças cardiovasculares (Langley-Evans et al., 1998). Um potencial correlação entre a exposição materna ao glifosato durante a fase gestacional e efeitos adversos em curto e longo prazo tem sido investigado: aborto, más formações, baixo peso ao nascer e até alterações neurológicas e comportamentais na fase adulta são algumas das consequências (Baldi et al., 2011; Kim et al., 2017; Wickerham et al., 2012). No sistema cardiovascular esses efeitos adversos também se expressam, com alterações eletrofisiológicas que resultam em arritmias do coração e a presença de transposição de grandes artérias em crianças que foram submetidas a presença de herbicidas durante a fase uterina. Apesar disso, são escassos os estudos na literatura que relacionem exposição in utero ao glifosato com o aparecimento de alterações cardiovasculares, principalmente que investiguem prováveis alterações em longo prazo da função e de seu equilíbrio oxidativo no leito vascular na fase adulta. Assim, a presente proposta propõe investigar se a exposição crônica ao glifosato-Roundup® promove efeitos sobre a função vascular e se essa mesma exposição durante a fase intrauterina e perinatal reprograma a função vasomotora em artérias isoladas da prole adulta com destaque para verificação de possíveis mecanismos de desequilíbrio REDOX e surgimento de doenças vasculares.

2. Metodologia

Animais

Neste estudo foram utilizados ratos Wistar machos e fêmeas. Esses animais foram fornecidos pelo biotério do Departamento de Farmacologia da Universidade do Vale do São Francisco - UNIVASF e foram mantidos em gaiolas sob

condições controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso a água e alimentação. Os procedimentos adotados no manejo dos animais seguiram as recomendações do COBEA. Este projeto foi aprovado ao Comitê de Ética em experimentação animal da UNIVASF com nº 0001/240919.

Obtenção do modelo animal

Para esta pesquisa experimental foram utilizadas Ratas Wistar virgens mantidas em gaiolas com ratos machos na proporção de 3:1 para serem acasaladas. A constatação da cópula foi realizada mediante a presença de espermatozoides no esfregaço vaginal e 24 h após esta constatação foi considerado o primeiro dia de gestação. As fêmeas foram pesadas e isoladas em gaiolas separadas, divididas aleatoriamente em dois grupos: O grupo gestacional controle (O-CON) recebeu somente água e o grupo gestacional glifosato (O-GHB) que foram tratadas com 3.9 g/l de glifosato oralmente na água de beber (0,125% formulação comercial de glifosato) equivalente a 200 mg Glifosato/kg/dia durante o período completo gestacional e de lactação. Essas doses foram selecionadas baseadas nos níveis não observáveis de efeitos adversos (NOAEL) de 1000 mg/kg/dia para toxicidade materna. Das proles dos grupos (O-CON) e (O-GHB) foram utilizados somente os ratos machos que foram separados em gaiolas de acordo com o tratamento recebido, receberam água e comida ad libitum até os 6 meses de idade. As proles dos grupos (O-CON) e (O-GHB) foram utilizadas para os experimentos descritos abaixo.

Metodologia empregada para estudo de reatividade vascular em artérias aorta

Após a obtenção dos grupos expostos ao glifosato, os ratos foram anestesiados com a mistura de ketamina, xilazina e acetopromazina (0,7, 0,2, 0,1 v/v – 0,08 mg/ Kg, i.m.) e em seguida, eutanasiados em câmara de gás carbônico e então foram exsangüinados. A artéria aorta torácica foi cuidadosamente removida e imersa em uma placa de Petri contendo solução de Krebs-Henseleit, cuja composição (em mM): NaCl 118; KCl 4,7; NaHCO₃ 25; CaCl₂.2H₂O 2,5; glicose 11; KH₂PO₄ 1,2; MgSO₄.7H₂O 1,2 e EDTA 0,01) gaseificada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂) com pH de 7,4. A artéria foi dividida em segmentos de 3 mm de comprimento, livre dos tecido conectivo e adiposo, para os segmentos sem endotélio a retirada se deu mecanicamente com raspagem do lúmen. Para obtenção do registro de tensão isométrica, cada anel vascular foi colocado em um sistema para órgãos isolados. As cubas conterão 5 ml de solução de Krebs-Henseleit aquecida a 37° C, continuamente gaseificada com mistura carbogênica, mantendo o pH estável em 7,4. Dois fios de metal foram passados através do lúmen das artérias. Um fio metálico foi fixado à parede do banho e o outro conectado verticalmente a um transdutor de tensão isométrica (LETICA Scientic Instruments, TRI-210, Barcelona, Spain). A tensão isométrica foi registrada através de um transdutor de tensão isométrica conectado a um sistema de aquisição de dados (Powerlab, ADInstruments, Bella Vista, Austrália) e este a um computador. Os anéis de aorta torácica foram submetidos a uma tensão de repouso de 1g, a qual foi reajustada a cada 15 min, durante 45 min para estabilização.

Protocolos experimentais

Avaliação da resposta de relaxamento dependente e independente do endotélio em artérias aorta e mesentérica superior de ratos adultos.

Após um período de 30 min, seguido da contração induzida pelo KCl 75 mM, os anéis arteriais foram pré-contraídos com dose única de fenilefrina (10⁻³M) e curvas concentração-resposta à acetilcolina (10⁻¹⁰M - 10⁻⁵M) foram realizadas. A ausência do endotélio foi confirmada pela incapacidade da acetilcolina (10⁻³M) induzir relaxamento. Após a confirmação da ausência do endotélio, as preparações foram lavadas e, após retorno à tensão basal, foram realizadas curvas concentração-resposta à Acetilcolina (10⁻⁹M a 10⁻⁴M), de maneira cumulativa. Já a resposta vasodilatadora não mediada pelo endotélio foi analisada através do relaxamento induzido pelo nitroprussiato de sódio (NPS). Assim como para a acetilcolina, e, após

formação de um platô, foram realizadas curvas concentração-resposta a esse doador de óxido nítrico (10^{-10}M - 10^{-4}M).

Análise dos efeitos do glifosato sobre a produção do óxido nítrico de origem vascular, das espécies reativas de oxigênio e da inibição da síntese das prostaglandinas sobre o relaxamento induzido por acetilcolina.

O efeito do óxido nítrico sobre a contração induzida por fenilefrina foi avaliado através da utilização do N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), um inibidor não seletivo da sintase de óxido nítrico. A participação de radicais livres foi analisada incubando as artérias com mimético da superóxido dismutase (TEMPOL). Cada fármaco foi incubado durante 30 min antes da realização das curvas de relaxamento à acetilcolina. Com a finalidade de avaliar o papel da ciclooxigenase sobre as possíveis alterações no relaxamento dependente do endotélio, os segmentos arteriais foram pré-incubados com um inibidor não-seletivo da COX-1 e 2, a indometacina.

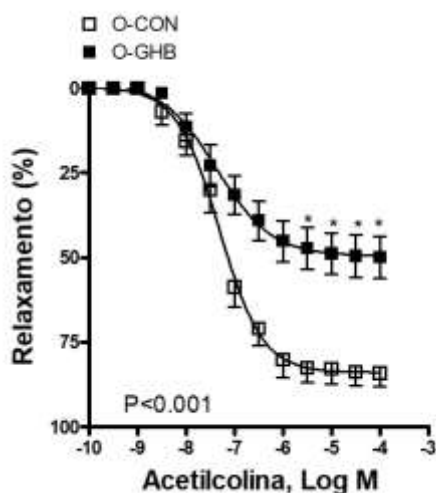
Análise Estatística

A análise estatística dos resultados será realizada por teste t, pareado e/ ou não pareado, e análise de variância (ANOVA), duas vias, medidas repetidas ou completamente randomizada. Quando a ANOVA apresentar significância estatística o teste post-hoc de Bonferroni será realizado (GraphPad Prism Software, San Diego, CA, E.U.A). Os resultados serão considerados estatisticamente significantes para valores de $P < 0,05$.

3. Resultados

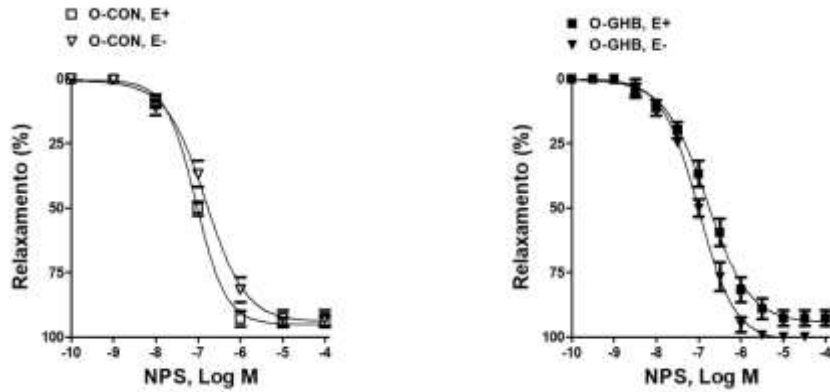
A fim de avaliar a função endotelial através do relaxamento dependente do endotélio, curvas concentração resposta à acetilcolina foram realizadas em anéis de aorta pré-contraídos com fenilefrina. Nas artérias de ratos (O-GHB) foi observada um prejuízo do relaxamento induzido pela acetilcolina quando comparado ao seu respectivo controle (O-CON), 49% e 84% respectivamente (ANOVA: $P < 0,001$). (Figura 1), demonstrando um quadro de disfunção endotelial. O relaxamento independente do endotélio foi avaliado através do efeito induzido do nitroprussiato de sódio, que de maneira concentração dependente, causou o relaxamento dos anéis de aorta, não havendo diferença significativa entre os animais O-GHB e O-CON (Figura 2).

Figura 1. Curva de relaxamento dependente do endotélio induzido por acetilcolina em anéis de aorta torácica de ratos provenientes de ratas controle (O-CON) e tratados com glifosato (O-GHB). Resultados estão expressos como média \pm EPM. $N=6-8$ ratos em cada grupo.



Fonte: Autores.

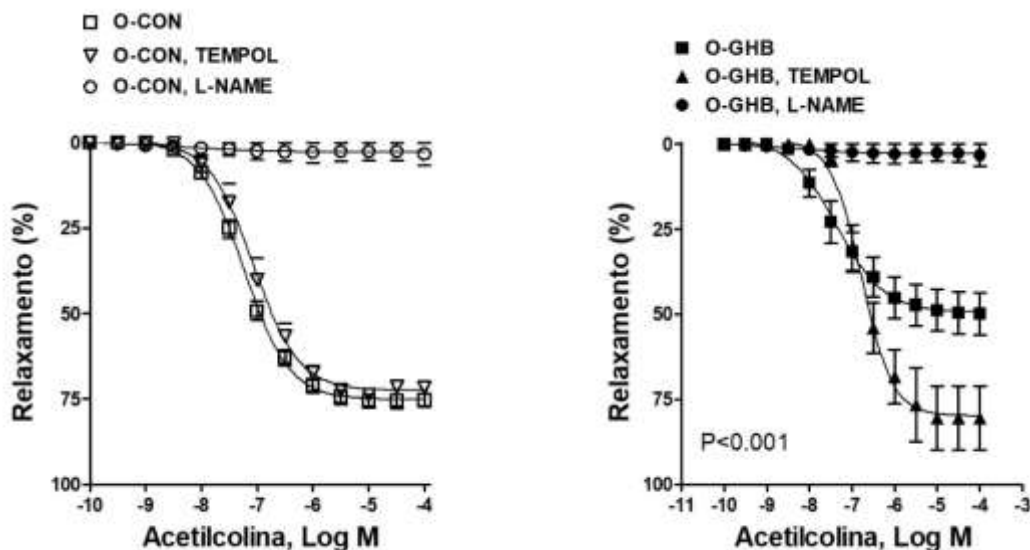
Figura 2. Curva concentração-resposta ao nitroprussiato de sódio (NPS) em anéis de aorta torácica de ratos provenientes de ratos controle (O-CON) e tratados com glifosato (O-GHB). Resultados estão expressos como média \pm EPM. ANOVA (duas vias): $P > 0,05$. N=6-8 ratos em cada grupo.



Fonte: Autores.

A inibição da síntese de NO (L-NAME) induziu uma significativa redução no relaxamento à acetilcolina em aorta dos animais O-CON e O-GHB. Em ambas não foram observadas diferenças no relaxamento à acetilcolina. A fim de avaliar a participação das espécies reativas de oxigênio (ROS) no relaxamento dependente do endotélio, curvas concentração resposta à acetilcolina foram realizadas em anéis de aorta pré-incubadas com TEMPOL. As artérias aorta do grupo O-GHB apresentaram uma melhora no relaxamento dependente do endotélio na presença do mimético da superóxido dismutase (Figura 3). No grupo O-CON a presença do TEMPOL não apresentou modificação do relaxamento induzido pela acetilcolina.

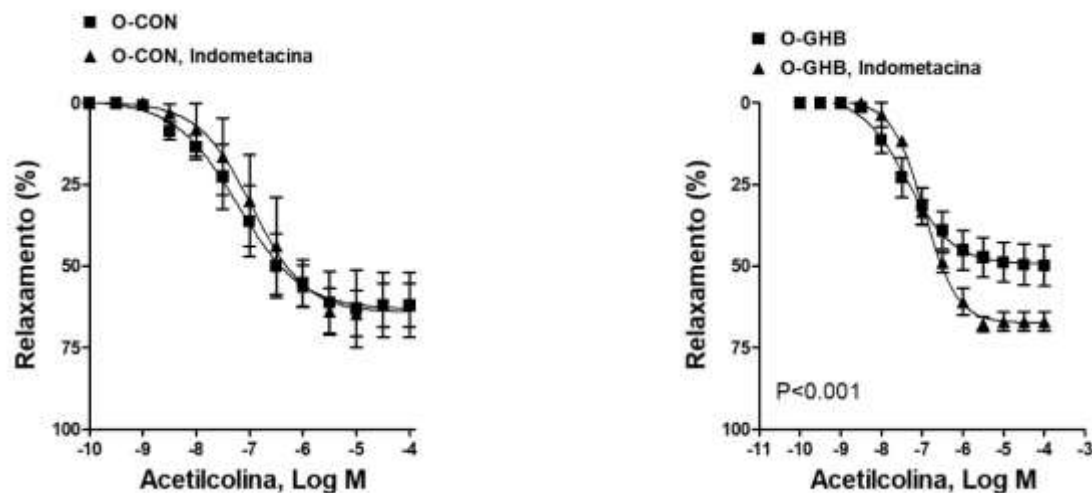
Figura 3. Efeito do mimético da superóxido dismutase (TEMPOL) e da inibição da síntese de NO (L-NAME, 100 μ mol/L) sobre a vasodilatação dependente do endotélio induzida pela acetilcolina, em anéis de aorta torácica de ratos provenientes de ratos controle (O-CON) e tratados com glifosato (O-GHB). Resultados estão expressos como média \pm EPM. N=6-8 ratos em cada grupo.



Fonte: Autores.

No sentido de investigar a participação de metabólitos derivados do ácido araquidônico no relaxamento dependente do endotélio, curvas concentração-resposta à acetilcolina foram realizadas na presença de inibidor da ciclooxigenase: a indometacina. Na aorta torácica dos animais O-GHB, a indometacina aumentou o relaxamento dependente do endotélio induzido pela acetilcolina e nas artérias do grupo O-CON não houve modificação do relaxamento à acetilcolina (Figura 4).

Figura 4. Efeito da indometacina na vasodilatação dependente do endotélio induzida pela acetilcolina em anéis de aorta torácica de ratos provenientes de ratos controle (O-CON) e tratados com glifosato (O-GHB). Resultados estão expressos como média \pm EPM



Fonte: Autores.

4. Discussão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram pela primeira vez que a exposição ao herbicida baseado em glifosato durante a fase natal e perinatal em doses abaixo do NOAEL é capaz de induzir alterações sobre a reatividade vascular em anéis de aorta de ratos na fase adulta. Esta exposição promove um quadro de disfunção vascular com prejuízo no relaxamento dependente do endotélio em mecanismos associados a participação da ciclooxigenase-2 (COX-2), produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e diminuição da produção/biodisponibilidade do NO vascular.

São muitas as evidências científicas que demonstram os efeitos em longo prazo da exposição ao glifosato em baixas doses no período gestacional sobre o funcionamento dos sistemas fisiológicos: distúrbios neurocomportamentais (Gallegos et al., 2016), desregulações endócrinas e reprodutivas (Hass et al., 2012), alterações dos parâmetros hepáticos (Beuret et al., 2005) e na microbiota intestinal (Larsen et al., 2012) são algumas consequências. Entretanto, no que se refere ao sistema cardiovascular são escassas as evidências, mas esses efeitos também se expressam com alterações elétricas (Pan et al., 2017) no coração e transposição de grandes artérias em crianças expostas ao glifosato na fase intrauterina (Kimmel et al., 2013).

Nossos resultados demonstram em artéria aorta de ratos O-GHB que o relaxamento à Ach, mas não ao NPS foi reduzido comparado ao que foi observado nos ratos controle CON. Esse prejuízo na dilatação dependente do endotélio observado nos ratos O-GHB pode acarretar em repercussões patológicas importantes, sendo este um fator intimamente relacionado ao surgimento de enfermidades cardiovasculares, como por exemplo a aterosclerose, inflamação e ao desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial (Gimbrone & García-Cardena, 2016; Guzik & Touyz, 2017; Vieira et al., 2018). Uma vez que esta resposta de relaxamento foi inalterada ao NPS nos segmentos de artéria aorta, pode-se sugerir que

o prejuízo da função endotelial não é ocasionado por uma menor responsividade do músculo liso ao óxido nítrico. O mecanismo por trás dessa disfunção vasomotora não está claro, mas é bem conhecido que a exposição ao pesticida glifosato promove uma overprodução de ânions superóxidos e que esse tem papel fundamental na diminuição do NO. O NO é o principal agente vasodilatador derivado do endotélio que causa relaxamento do músculo liso vascular tendo seu efeito atenuado pelos ânions superóxidos que reagem com o NO produzindo potentes agentes oxidantes como peroxinitrito e o dióxido de nitrogênio. Em nosso trabalho, a presença do mimético da superóxido dismutase melhorou o relaxamento dependente do endotélio nos ratos O-GHB indicando que existe um quadro de estresse oxidativo nesses vasos. Isso confirma, a hipótese da “programação fetal” que propõe que eventos adversos ocorrido no período gestacional pode levar a alterações funcionais nos órgãos na vida adulta.

Condições pró inflamatórias são frequentemente associadas a um remodelamento vascular e causa disfunção endotelial em artérias sistêmicas. Vários são os estudos que mostram que a COX-2 é induzida em processos inflamatórios e que os produtos sintetizados por esta são responsáveis por muitos sintomas inflamatórios. Neste contexto, os prostanoídes derivados da COX-2 tem sido associado com o desenvolvimento de complicações vasculares e risco cardiovascular. Para avaliar o envolvimento dos produtos derivados da COX-2 nas respostas à Ach, nós usamos o inibidor não-seletivo da COX, a indometacina. Os anéis aórticos de ratos O-GHB incubados com indometacina tiveram seu relaxamento à Ach restaurado a níveis similares aos animais O-CON. Indicando, que os prostanoídes contrateis dessa enzima contribuem para a disfunção vascular presente nestes ratos.

5. Considerações Finais

Em conclusão, os resultados expostos nesse estudo demonstram pela primeira vez que a exposição ao glifosato durante o período gestacional, mesmo em níveis abaixo do considerado seguro, promove em ratos alterações em longo prazo sobre a função vasomotora e reforçam os conceitos de que o estresse oxidativo durante o período intrauterino e perinatal é um fator contribuinte para o desenvolvimento de distúrbios vasculares na fase adulta. Embora, mais estudos sejam necessários para avaliar se essas alterações repercutem, por exemplo, sobre os parâmetros pressóricos, é possível refletir sobre a segurança dos níveis atuais de exposição permitidos a esse pesticida na saúde pública.

Agradecimentos

Este trabalho foi apoiado financeiramente pela Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) através do Edital 16/2021 APQ-Jovens Pesquisadores, Código processo:APQ-0707-2.07/21. De Marins M.L.R é apoiada pela bolsa de mestrado do CNPq e Torres J.A.N e Leite R.G receberam bolsa de iniciação científica PIBIC / UPE.

Referências

- Ait-Bali, Y., Ba-M'hamed, S., Gambarotta, G., Sassoè-Pognetto, M., Giustetto, M., & Bennis, M. (2020). Pre- and postnatal exposure to glyphosate-based herbicide causes behavioral and cognitive impairments in adult mice: evidence of cortical and hippocampal dysfunction. *Archives of Toxicology*, 94(5), 1703–1723. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02677-7>
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., Martínez, M. A., Castellano, V. J., Martínez, M., Martín, M. T., Nozal, M. J., & Bernal, J. L. (2009). Toxicokinetics of glyphosate and its metabolite aminomethyl phosphonic acid in rats. *Toxicology Letters*, 190(1), 91–95. <https://doi.org/10.1016/J.TOXLET.2009.07.008>
- ANVISA. (2012). Relatório: Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos no Estado do Espírito Santo.
- Baldi, I., Gruber, A., Rondeau, V., Lebailly, P., Brochard, P., & Fabrigoule, C. (2011). Neurobehavioral effects of long-term exposure to pesticides: results from the 4-year follow-up of the PHYTONER study. *Occupational and Environmental Medicine*, 68(2), 108–115. <https://doi.org/10.1136/OEM.2009.047811>
- Beuret, C. J., Zirulnik, F., & Giménez, M. S. (2005). Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses. In *Reproductive Toxicology* (Vol. 19, Issue 4, pp. 501–504). <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2004.09.009>

- Casares, F. M., & Mantione, K. J. (2006). Pesticides may be altering constitutive nitric oxide release, thereby compromising health. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 12(10). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17006416/>
- Cattani, D., Cesconetto, P. A., Tavares, M. K., Parisotto, E. B., de Oliveira, P. A., Rieg, C. E. H., Leite, M. C., Prediger, R. D. S., Wendt, N. C., Razzera, G., Filho, D. W., & Zamoner, A. (2017). Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: Implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. *Toxicology*, 387(February), 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.06.001>
- Chan, Y. C., Chang, S. C., Hsuan, S. L., Chien, M. S., Lee, W. C., Kang, J. J., Wang, S. C., & Liao, J. W. (2007). Cardiovascular effects of herbicides and formulated adjuvants on isolated rat aorta and heart. *Toxicology in Vitro*, 21(4), 595–603. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2006.12.007>
- Daruich, J., Zirulnik, F., & Sofia Gimenez, M. (2001). Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. *Environmental Research*, 85(3), 226–231. <https://doi.org/10.1006/enrs.2000.4229>
- de Amarante Junior, O. P., dos Santos, T. C. R., Brito, N. M., & Ribeiro, M. L. (2002). Glyphosate: properties, toxicity, use and legislation. *Química Nova*, 25(4), 589–593. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000400014>
- de Liz Oliveira Cavalli, V. L., Cattani, D., Heinz Rieg, C. E., Pierozan, P., Zanatta, L., Benedetti Parisotto, E., Wilhelm Filho, D., Mena Barreto Silva, F. R., Pessoa-Pureur, R., & Zamoner, A. (2013). Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 65, 335–346. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2013.06.043>
- Gallegos, C. E., Bartos, M., Bras, C., Gumilar, F., Antonelli, M. C., & Minetti, A. (2016). Exposure to a glyphosate-based herbicide during pregnancy and lactation induces neurobehavioral alterations in rat offspring. *NeuroToxicology*, 53, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.11.015>
- Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. (2010). Pesticides and health risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing: JOGNN*, 39(1), 103–110. <https://doi.org/10.1111/J.1552-6909.2009.01092.X>
- Gimbrone, M. A., & García-Cardena, G. (2016). Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circulation Research*, 118(4), 620–636. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306301>
- Gress, S., Lemoine, S., Séralini, G. E., & Puddu, P. E. (2015). Glyphosate-Based Herbicides Potently Affect Cardiovascular System in Mammals: Review of the Literature. *Cardiovascular Toxicology*, 15(2), 117–126. <https://doi.org/10.1007/s12012-014-9282-y>
- Guzik, T. J., & Touyz, R. M. (2017). Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 70(4), 660–667. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.07802>
- Hass, U., Boberg, J., Christiansen, S., Jacobsen, P. R., Vinggaard, A. M., Taxvig, C., Poulsen, M. E., Herrmann, S. S., Jensen, B. H., Petersen, A., Clemmensen, L. H., & Axelstad, M. (2012). Adverse effects on sexual development in rat offspring after low dose exposure to a mixture of endocrine disrupting pesticides. *Reproductive Toxicology*, 34(2), 261–274. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.05.090>
- IBAMA. (2016). Relatórios de comercialização de agrotóxicos. <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#sobreosrelatorios>
- K, W., G, G., Z, E., P, P., JE, G., MS, R., NA, B., & X, L. (2014). Use of a glyphosate-based herbicide-induced nephrotoxicity model to investigate a panel of kidney injury biomarkers. *Toxicology Letters*, 225(1), 192–200. <https://doi.org/10.1016/J.TOXLET.2013.12.009>
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *The Science of the Total Environment*, 575, 525–535. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.09.009>
- Kimmel, G. L., Kimmel, C. A., Williams, A. L., & Desesso, J. M. (2013). Evaluation of developmental toxicity studies of glyphosate with attention to cardiovascular development. *Critical Reviews in Toxicology*, 43(2), 79–95. <https://doi.org/10.3109/10408444.2012.749834>
- Langley-Evans, S. C., Gardner, D. S., & Welham, S. J. M. (1998). Intrauterine programming of cardiovascular disease by maternal nutritional status. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 14(1), 39–47. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(97\)00391-2](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(97)00391-2)
- Larsen, K., Najle, R., Lifschitz, A., Maté, M. L., Lanusse, C., & Virkel, G. L. (2014). Effects of sublethal exposure to a glyphosate-based herbicide formulation on metabolic activities of different xenobiotic-metabolizing enzymes in rats. *International Journal of Toxicology*, 33(4), 307–318. <https://doi.org/10.1177/1091581814540481>
- Larsen, K., Najle, R., Lifschitz, A., & Virkel, G. (2012). Effects of sub-lethal exposure of rats to the herbicide glyphosate in drinking water: Glutathione transferase enzyme activities, levels of reduced glutathione and lipid peroxidation in liver, kidneys and small intestine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34(3), 811–818. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.09.005>
- Marc, J., Mulner-Lorillon, O., & Bellé, R. (2004). Glyphosate-based pesticides affect cell cycle regulation. *Biology of the Cell*, 96(3), 245–249. <https://doi.org/10.1016/J.BIOLCEL.2003.11.010>
- Mesnage, R., Clair, E., Gress, S., Then, C., Székács, A., & Séralini, G. E. (2013). Cytotoxicity on human cells of Cry1Ab and Cry1Ac Bt insecticidal toxins alone or with a glyphosate-based herbicide. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 33(7), 695–699. <https://doi.org/10.1002/JAT.2712>
- Milić, M., Žunec, S., Micek, V., Kašuba, V., Mikolić, A., Lovaković, B. T., Semren, T. Ž., Pavičić, I., Čermak, A. M. M., Pizent, A., Vrdoljak, A. L., Valencia-Quintana, R., Sánchez-Alarcón, J., & Željčić, D. (2018). Oxidative stress, cholinesterase activity, and DNA damage in the liver, whole blood, and plasma of Wistar rats following a 28-day exposure to glyphosate. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 69(2), 154–168. <https://doi.org/10.2478/AIHT-2018-69-3114>
- Pan, L., Xu, M., Yang, D., Wang, B., Zhao, Q., Ding, E.-M., & Zhu, B. (2017). The association between coronary artery disease and glyphosate exposure found in pesticide factory workers. *Journal of Public Health and Emergency*, 1(June 2016), 4–4. <https://doi.org/10.21037/jphe.2016.12.04>

- Pereira, J. L., Pereira, R. R., Resende-Silva, G. A., Jakelaitis, A., Silva, A. A., & Picanço, M. C. (2020). Glyphosate impact on arthropods associated to roundup ready and conventional soybean (*Glycine max* L.). *Planta Daninha*, 38, 1–11. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582020380100047>
- Pu, Y., Yang, J., Chang, L., Qu, Y., Wang, S., Zhang, K., Xiong, Z., Zhang, J., Tan, Y., Wang, X., Fujita, Y., Ishima, T., Wang, D., Hwang, S. H., Hammock, B. D., & Hashimoto, K. (2020). Maternal glyphosate exposure causes autism-like behaviors in offspring through increased expression of soluble epoxide hydrolase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(21). <https://doi.org/10.1073/pnas.1922287117>
- Relyea, R. A. (2005). The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48(3), 351–357. <https://doi.org/10.1007/S00244-004-0086-0>
- Vieira, L. D., Farias, J. S., de Queiroz, D. B., Cabral, E. v., Lima-Filho, M. M., Sant'Helena, B. R. M., Aires, R. S., Ribeiro, V. S., Santos-Rocha, J., Xavier, F. E., & Paixão, A. D. (2018). Oxidative stress induced by prenatal LPS leads to endothelial dysfunction and renal haemodynamic changes through angiotensin II/NADPH oxidase pathway: Prevention by early treatment with α -tocopherol. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1864(12), 3577–3587. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.09.019>
- Wang, G., Fan, X. N., Tan, Y. Y., Cheng, Q., & Chen, S. di. (2011). Parkinsonism after chronic occupational exposure to glyphosate. *Parkinsonism & Related Disorders*, 17(6), 486–487. <https://doi.org/10.1016/J.PARKRELDIS.2011.02.003>
- Warembourg, C., Basagaña, X., Seminati, C., de Bont, J., Granum, B., Lyon-Caen, S., Manzano-Salgado, C. B., Pin, I., Sakhi, A. K., Siroux, V., Slama, R., Urquiza, J., Vrijheid, M., Thomsen, C., & Casas, M. (2019). Exposure to phthalate metabolites, phenols and organophosphate pesticide metabolites and blood pressure during pregnancy. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 222(3), 446–454. <https://doi.org/10.1016/J.IJHEH.2018.12.011>
- WHO. (1990). *Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture*. Geneva, Switzerland. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39772/9241561394.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Wickerham, E. L., Lozoff, B., Shao, J., Kaciroti, N., Xia, Y., & Meeker, J. D. (2012). Reduced birth weight in relation to pesticide mixtures detected in cord blood of full-term infants. *Environment International*, 47, 80–85. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2012.06.007>
- Yavuz, T., Delibas, N., Yildirim, B., Altuntas, I., Candir, O., Cora, A., Karahan, N., Ibrism, E., & Kutsal, A. (2005). Vascular wall damage in rats induced by organophosphorus insecticide methidathion. *Toxicology Letters*, 155(1), 59–64. <https://doi.org/10.1016/J.TOXLET.2004.08.012>