



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA VOLUNTÁRIA - PICVOL

**ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E MONOAMINÉRGICAS APÓS  
EXPOSIÇÃO REPETIDA DE GLIFOSATO EM RATOS**  
**Avaliação das alterações monoaminérgicas após exposição crônica por inalação  
de Clethodim em ratos**

Área do conhecimento: Ciências Biológicas  
Subárea do conhecimento: Fisiologia humana  
Especialidade do conhecimento: Neurofisiologia

Relatório Final

Período de bolsa: de 01/09/2022 a 31/08/2023

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PICVOL

Orientador: Dr. José Ronaldo Dos Santos  
Autor: Cássia Ellen De Jesus Lima



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

**SUMÁRIO**

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                   | <b>4</b>  |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS.....</b>                                     | <b>7</b>  |
| 2.1      | Objetivo Geral .....                                      | 7         |
| 2.2      | Objetivos Específicos .....                               | 7         |
| <b>3</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                           | <b>8</b>  |
| 3.1      | Animais.....  | 8         |
| 3.2      | Drogas.....   | 8         |
| 3.3      | Procedimentos Gerais .....                                | 8         |
| 3.4      | Delineamento Experimental.....                            | 9         |
| 3.5      | Perfusão Transcardíaca E Processamento Dos Cérebros ..... | 11        |
| 3.6      | Avaliação Da Variação Da Massa Corporal .....             | 12        |
| 3.7      | Aferição Da Glicose.....                                  | 12        |
| 3.8      | Avaliação Da Massa Dos Órgãos.....                        | 13        |
| 3.9      | Avaliação De Ingestão Dos Alimentos .....                 | 13        |
| 3.10     | Análise Estatística.....                                  | 13        |
| <b>4</b> | <b>RESULTADOS.....</b>                                    | <b>14</b> |
| 4.1      | Avaliação Da Variação Da Massa Corporal .....             | 14        |
| 4.2      | Massa Dos Órgãos .....                                    | 15        |



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

|     |   |           |
|-----|---|-----------|
| 4.3 | Consumo Alimentar.....                                      | 16        |
| 4.4 | Índice Glicêmico .....                                      | 16        |
| 5   | <b>DISCUSSÃO.....</b>                                       | <b>18</b> |
| 6   | <b>CONCLUSÃO .....</b>                                      | <b>20</b> |
| 7   | <b>PERSPECTIVAS.....</b>                                    | <b>20</b> |
| 8   | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                      | <b>21</b> |
| 9   | <b>OUTRAS ATIVIDADES .....</b>                              | <b>26</b> |
| 10  | <b>JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO PLANO DE TRABALHO.....</b> | <b>27</b> |
| 11  | <b>ANEXO.....</b>   | <b>28</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Agrotóxicos, também conhecidos por defensivos agrícolas e pesticidas são substâncias, ou misturas de substâncias destinadas a prevenir, destruir ou controlar a população de um organismo alvo, atuando de forma direta ou indireta, na vida animal e ou vegetal. Entretanto, o uso desses compostos pode causar prejuízos à saúde do ambiente e humana,(Peres et al., 2003). A agricultura tem avançado, buscando inovar em tecnologias para melhorar a produtividade, tendo como objetivo reduzir prejuízos nos meios de produção e aprimorar a qualidade dos alimentos de forma acessível (Belchior et al., 2014).

Os agrotóxicos podem ser classificados quanto a seu modo de ação, toxicidade, seletividade e quimicamente (Richardson et al., 2019). Quanto ao modo de ação, os agrotóxicos são classificados de acordo com o organismo alvo, em exemplo: fungicidas (ação contra fungos), inseticidas (insetos), herbicidas (ervas daninhas), raticidas (ratos), nematicidas (nematóides), fumigantes (formigas), avicidas (aves), moluscicidas (moluscos), acaricidas (ácaros) e entre outros (Akashe; Pawade; Nikam, 2018).

A toxicidade exercida pelo uso dos agrotóxicos é baseada na capacidade que o composto apresenta em promover riscos aos organismos alvos e não- alvos (Boobis et al., 2006). Dessa forma, foram estabelecidas categorias que variam de I a IV, com cores referentes a cada grau de toxicidade, estas cores devem estar apresentadas no rótulo do produto, a fim de identificar ao consumidor sua classificação. As categoria são : 1 – extremamente tóxico – faixa vermelha, 2 –altamente tóxico – faixa vermelha, 3 – moderadamente tóxico – faixa amarela, 4 – produto pouco tóxico – faixa azul (Savoy, 2011).

| <b>Classificação toxicológica dos agrotóxicos</b> |                      |                     |                     |
|---|----------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Classes</b>                                    | <b>Grupos</b>        | <b>DL50 (mg/Kg)</b> | <b>Cor da faixa</b> |
| <b>I</b>  | Extremamente tóxicos | ≤ 5                 | Vermelha            |
| <b>II</b>   | Altamente tóxicos    | 5-50                | Amarela             |
| <b>III</b>  | Mediamente tóxicos   | 50 - 500            | Azul                |
| <b>IV</b>   | Pouco tóxicos        | 50 - 5000           | Verde               |

Fonte: SAVOY (2011).

Na área agrícola, muitos trabalhadores estão sujeitos à toxicidade desses compostos de forma direta ou indireta, por estarem desprovidos de equipamentos de proteção individual (EPI) ou pela utilização inadequada dos mesmos, além do possível descarte inadequado das embalagens. Diante disso, os riscos à saúde podem ser ocasionados pela inalação destes compostos, em suspensão, durante as atividades de pulverização dos agentes. Essa atividade pode provocar, contaminações não apenas do indivíduo exposto, como também, na transposição dos agentes químicos através do ar transportados para a periferia de áreas locais na região (Chang; Simcik; Capel, 2011). Além disso, os pesticidas apresentam efeitos adversos em espécies que não são seus alvos, afetando a biodiversidade animal, vegetal, redes alimentares, ecossistemas aquáticos e terrestres, de modo que, são capazes de provocar processos bioacumulativos a partir de sua volatilização. Em uso prolongado, essas substâncias são absorvidas a partir do ambiente, como água, alimentos ou ar e são dificilmente eliminadas pelo organismo, podendo ocasionar em danos ao sistema reprodutivo, nervoso e imunológico (Mahmood et al., 2016).

Os pesticidas podem causar efeitos adversos à saúde a curto prazo, denominados efeitos agudos, bem como efeitos crônicos que podem ser apresentados em prazos de meses ou anos após a exposição (Varghese et al., 2021). Os efeitos de uma contaminação aguda à saúde podem incluir ardor nos olhos, erupções cutâneas, bolhas, cegueira, náuseas, tonturas e diarreia. A contaminação crônica pode desencadear, em formações de cânceres, defeitos congênitos, danos reprodutivos, perturbações no sistema endócrino, além de possíveis danos neurológicos e eventos de neurotoxicidade (neuropatias periféricas, Alzheimer, depressão, Esclerose Lateral Amiotrófica, ansiedade e Parkinson) (Varghese et al., 2021).

A neurotoxicidade é definida como qualquer efeito adverso que perturbe o desempenho do sistema nervoso central e periférico (Gameiro, 2016). Estes fatores são mediados através de níveis neuroquímicos, comportamentais, neurofisiológicos ou anatômicos (Tilson et al., 1995). Assim, dentre as doenças neurodegenerativas com maior viabilização, a doença de Parkinson (DP) é uma patologia progressiva neurodegenerativa comum, caracterizada pela desordem progressiva dos núcleos da base identificada, principalmente, pela morte de neurônios dopaminérgicos na via nigroestriatal (Giza et al, 2012). Os sintomas característicos da DP podem variar de acordo com o nível de

comprometimento, relacionados diretamente ao estágio da doença, variando entre sintomas motores e não motores (Austin; Ameringer; Cloud, 2016).

Vários pesticidas possuem características em comum como a capacidade de induzir estresses oxidativos, condição resultante do desequilíbrio entre a quantidade de espécies reativas de oxigênio em reações bioquímicas constituintes e a atividade dos sistemas antioxidantes intracelulares (Baltazar et al, 2014). Baseado nos fatores ambientais, estudos tem correlacionado a ocorrência da DP à exposição agroquímicos como o glifosato, de modo que, em 2015 foi reclassificado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), como possível fator cancerígeno para os seres humanos (Van Bruggen et al, 2018).

O glifosato, (N-fosfometil glicina), é um herbicida organofosforado não seletivo, com atividade de amplo espectro, que foi introduzido ao mercado a partir de 1974 para o controle de ervas daninhas nos campos de produção agrícola (Costas-Ferreira; Durán; Faro, 2022). Com o surgimento de plantações geneticamente modificadas (transgênicas), o uso do glifosato aumentou dramaticamente no final dos anos 1990 e 2000 (Monquero, 2005). Devido a utilização em larga escala, os possíveis efeitos do glifosato na saúde humana são constantemente investigados.

O gradativo aumento nas concentrações do Glifosato foram capazes de promover uma maior resistência em gramíneas, sendo necessário novos estudos sobre outros compostos em finalidade de combater as espécies que adquiriram tal efeito, o que possibilitou a criação do composto Clethodim (CL), um herbicida seletivo de pós-emergência que atua através da inibição da acetil-coenzima A carboxilase para controlar gramíneas anuais e perenes (Xiong et al, 2019).

Este pesticida com capacidade seletiva, é classificado pela Environmental Protection Agency (EPA) como um agente de classe II em grau de toxicidade (wang et al, 2019). Ao ser manuseado em lavouras sua exposição aguda, sem a devida utilização adequada dos EPI's, pode influir em irritações nos olhos, na pele ou atuar no sistema nervoso central provocando, sintomas como salivação, diminuição da atividade motora, incoordenação, marcha instável e hiperatividade (Wang et al, 2019).

Conforme os aspectos demonstrados sobre o CL, em nosso trabalho acreditamos na hipótese de que a exposição crônica ao CL possa estar relacionada às alterações

monoaminérgicas características da DP e promover a neurotoxicidade, além de alterar mecanismos fisiológicos como a captação de insulina e alterações na massa dos animais. Todavia, os mecanismos moleculares sobre o CL ainda não são totalmente elucidados e existem lacunas a respeito das possíveis configurações em que esse agente pode atuar. Dessa forma, são necessários mais estudos envolvendo modelos animais com objetivo de elucidar a possível influência do Clethodim nos mecanismos fisiopatológicos da DP.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar o efeito da exposição crônica ao clethodim sobre alterações glicêmicas e de massa corporal.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar se a inalação crônica do clethodim pode desencadear mudanças na massa corpórea dos animais tratados;
- Verificar se a inalação crônica do clethodim pode provocar alterações nos níveis glicêmicos;
- Verificar se a inalação crônica do clethodim pode alterar a ingestão alimentar dos animais;
- Verificar se a inalação crônica do clethodim promove alteração no peso dos órgãos.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS

Foram utilizados 30 animais machos da linhagem *Wistar*, com peso médio de 350-450 g, entre 6-8 meses de idade, provenientes do biotério setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Os animais foram mantidos no biotério e alojados em gaiolas plásticas (33 x 40 x 17 cm), com no máximo quatro animais por gaiola, sob ventilação e temperatura controlada ( $22 \pm 2$  °C), respeitando o ciclo claro/escuro de 12h/12h e acesso *ad libitum* à água e comida. Os animais utilizados neste estudo foram cuidados de acordo com os princípios estabelecidos pela lei brasileira para o uso de animais em pesquisa nº 11.974/08, de 8 de outubro de 2008 (Lei Arouca). Todos os procedimentos foram realizados após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (CEPA/UFS) sob protocolo de nº 5228100323. Todos os procedimentos utilizados visaram minimizar o sofrimento causado nos animais e diminuir ao máximo o número de animais utilizados.

#### 3.2 DROGAS

Utilizamos uma formulação comercial de clethodim (24%), intitulada por Select®, com 240 g/L (24%) de clethodim e 646,52 g/L do solvente alquibenzeno (64,65%), em conjunto com uma mistura de outros ingredientes presentes nesta formulação 56,48 g/L (5,65%), sendo administrada no grupo tratado e solução salina (0,9%) para o grupo controle.

#### 3.3 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os animais foram submetidos a sessões diárias de manipulação durante 5 minutos em um período de 5 dias antes do início dos experimentos, afim de que os animais se habituassem ao toque e a presença dos experimentadores. Os experimentos comportamentais foram realizados sempre pela manhã, preferencialmente no mesmo horário das 8:00 – 14:00. Durante os testes comportamentais entre um animal e outro, ao término de cada sessão os aparatos foram limpos com uma solução de etanol a 10%, afim de eliminar possíveis pistas e rastros deixados pelos animais. Os parâmetros comportamentais dos testes: campo aberto, alternância espontânea e reconhecimento de objeto foram quantificados com o auxílio do software de rastreamento de animais (Anymaze, Stoelting, USA).

A concentração das soluções corresponde respectivamente a 0,06% para o grupo 1X, 0,03% no grupo 5X e 0,6% no grupo 10X, diluídos em água destilada e no grupo CTL houve uma concentração de 0,9% na solução que foi diluída em soro fisiológico. As concentrações utilizadas no presente estudo foram escolhidas a partir da concentração popularmente utilizada na agricultura (0,06% de CL) e seguiu com concentrações cinco e dez vezes maiores que a inicial.

#### 3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: (1) grupo controle (CTL) (n=7), tratado com solução veículo; (2) grupo 1X (n = 7), tratado com CL 0,06%; (3) grupo 5X (n = 8), tratado com CL 0,03% e (4) grupo 10X (n = 8), tratado com CL 0,6%.

Para mimetizar a exposição ao herbicida CL, semelhante ao que ocorre no ambiente com os trabalhadores, foi escolhido a inalação como a melhor via para mimetizar este efeito. A inalação do composto ou da solução veículo foi realizada com o auxílio de um aparelho nebulizador OMRON (C801NEBLA), acoplado a uma caixa plástica vedada (33 x 40 x 17 cm). A caixa plástica possui uma tampa com capacidade de vedação para garantir que os compostos a serem nebulizados sejam inalados pelos animais durante um tempo de 10 minutos com um agrupamento de dois animais do mesmo grupo por caixa. O nebulizador foi acoplado na parte superior da caixa. Vale ressaltar que todo o aparato de nebulização é externo à caixa e o animal não possuiu acesso a não ser a caixa na qual o mesmo foi colocado durante as sessões de nebulizações.

Durante as sessões de nebulizações, a caixa permaneceu dentro da capela de exaustão ao longo de todo o experimento, afim de evitar a disseminação pelo ar dos compostos utilizados. Foram utilizadas duas caixas para a nebulização de mesmo tamanho e forma, para que os animais controles sempre fossem alocados em uma caixa que não teve contato com CL. A dimensão do aparelho nebulizador é de aproximadamente 142mm (largura) x 72mm (altura) x 98mm (profundidade), com peso de aproximadamente 270g (somente o compressor).

O CL foi diluído em 1,6 ml de soro fisiológico na concentração de 0,9%, nesse volume os ratos não apresentaram seus pelos molhados, visto que este volume e método já foi padronizador por Souza et al. (2020). Nesse trabalho, a utilização desse volume,

com a exposição do composto deltametrina durante 10 minutos em que foi realizado, não houve quaisquer problemas relacionados a umidade nos pelos dos animais.

A ordem dos animais a serem nebulizados foi feita da seguinte maneira: inicialmente, a nebulização com todos os indivíduos CTL para minimizar ao máximo as chances de os animais deste grupo entrarem em contato com alguma concentração do CL pelo ar quando a caixa de nebulização era aberta após o tempo de exposição. Em seguida foram colocados em caixas individuais identificadas e com maravalha, para que fosse eliminado o cheiro da solução salina durante 30 minutos. Passado o tempo, eles foram realocados em suas caixas correspondentes e levados para o biotério. Além disso, cada gaiola de alojamento abrigou apenas animais do mesmo grupo de tratamento, exemplo: uma caixa apenas com animais controles, outra com animais do grupo 1X e assim respectivamente com os demais grupos.

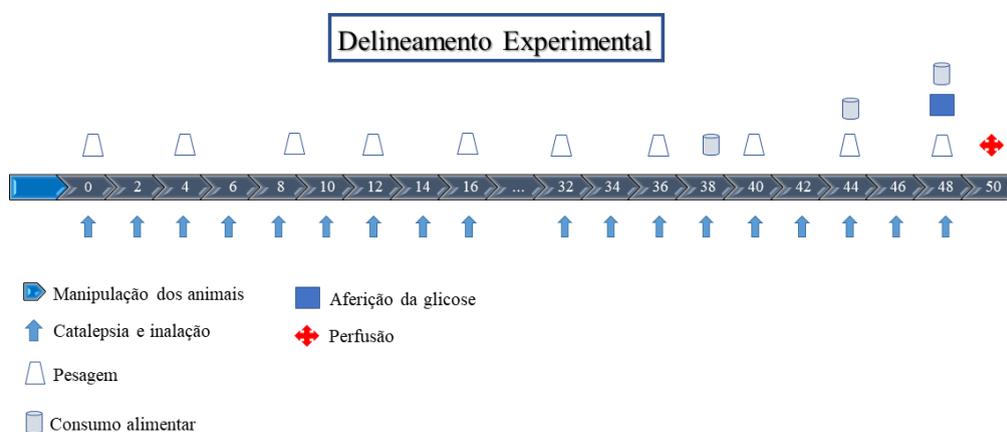
Os indivíduos que receberam o CL seguiram a ordem para entrar na caixa de nebulização de acordo com o valor da sua concentração (do menor para o maior). Dessa forma os animais do grupo 1X foram expostos logo após os CTL, os do 5X após os do grupo 1X, os do grupo 10X após os do grupo 5X. Após cada animal sair da caixa de nebulização foi realizada higienização dos materiais com álcool a 10%.

Durante a nebulização os animais foram observados dentro da caixa nebulizadora durante todo o tempo previsto, para que caso eles apresentassem hiperatividade ou emitissem sons que sinalizassem desconforto, sonolência ou se debatessem na caixa, fossem retirados do experimento. Após as nebulizações, os animais receberam duas verificações diárias, a primeira as 8 horas da manhã e a segunda às 16 horas da tarde, afim de verificar se os animais que receberam CL estavam bem. Animais que demonstrassem comportamentos aberrantes, sinais de dor e/ou perda de peso exacerbada também seriam eutanasiados.

Foram realizadas 25 sessões de nebulizações de soro fisiológico ou CL, ambos foram administrados no volume de 4 ml, sendo o melhor volume para que ele fosse nebulizado durante os 10 minutos da sessão. Entre a entrada de um animal e outro, o aparato foi limpo com papel toalha para retirar as fezes e a urina. Durante o término da nebulização de cada grupo, os materiais utilizados foram lavados com água, detergente,

água sanitária e álcool 10%, afim de evitar a contaminação entre as diferentes concentrações do CL, sendo seguindo da mesma maneira para os demais grupos.

Ao longo do experimento os animais foram submetidos a variáveis verificações: (1) Pesagem (72 horas após cada nebulização), (2) Consumo alimentar (Referentes ao dia 38º, 44º e 48º), (3) Aferição da glicose (48 horas após a 23ª sessão de nebulização), com realização da perfusão no dia 50 (Figura 1).



**Figura 1: Representação esquemática do delineamento experimental.** O experimento foi realizado em um período de 50 dias, neste período os animais receberam 25 sessões de nebulização de solução salina ou CL. Os testes e procedimentos realizados estão representados na figura.

### 3.5 PERFUSÃO TRANSCARDÍACA E PROCESSAMENTO DOS CÉREBROS

Ao final dos testes comportamentais, os animais foram anestesiados com cetamina e cloridato de xilazina intraperitoneal, nas doses de 100 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente e os sinais de reflexo dos animais foram testados. Após completamente anestesiados, foi realizado uma cesso a cavidade torácica seccionando-se a pele e partes moles, expondo a cavidade abdominal e feita uma incisão no diafragma para exposição do coração.

Os animais foram perfundidos pela via intracardíaca com Tampão Fosfato Salina (TFS, pH 7,4) para lavar os vasos durante 5 minutos e posteriormente, com Paraformaldeído (PFA) 4% em Tampão Fosfato (TF, pH 7,4) durante 10 minutos para fixação do tecido. Continuamente, os cérebros foram removidos e conservados em PFA durante 24 horas. A solução foi trocada por solução de sacarose 30% a cada 10 dias. Os

cérebros foram congelados e as secções serão obtidas por congelamento em criostato de deslizamento (Leica, USA), através de cortes frontais de 50 µm, que serão distribuídas em 5 compartimentos contendo solução anticongelante. Cada um desses compartimentos corresponde a 1 de 5 secções, de maneira que a distância entre elas seja de 250 µm. Estes cortes serão armazenados em solução anticongelante à base de etilenoglicol e tampão fosfato, que posteriormente permanecerá conservada a 4 °C até o momento em que for realizar a imuno-histoquímica seguindo o protocolo realizado por Santos et al., (2013).

### 3.6 AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DA MASSA CORPORAL

Em experimentos que buscam avaliar a toxicidade dos agrotóxicos com modelos animais, é notado que há uma variação da massa corporal ao decorrer do experimento, fazendo-se necessário avaliar este parâmetro (Abuzeid et al., 2021; Karuppagounder et al., 2012; Simoni-Berra et al., 2023). O peso dos animais foi aferido a cada três dias com o auxílio de uma balança portátil. Para o cálculo da variação da massa corporal, foi utilizada a fórmula  $M = [(Mf/Mi) - 1] \times 100$ , onde M (massa), Mf (massa final), Mi (massa inicial).

### 3.7 AFERIÇÃO DA GLICOSE

Antes do início do teste, os animais permaneceram durante 24 horas em jejum de alimentos, sendo fornecido somente água para esses animais. Após passado o tempo estabelecido, foi realizado uma perfuração na veia caudal do rato com o auxílio de uma agulha hipodérmica para a retirada do sangue do animal e avaliar seu nível glicêmico. Após retirado o sangue, o mesmo foi colocado em um aparelho aferidor GUNKA GUNKA e foi anotado o seu valor. Posteriormente, após realizada a primeira aferição (basal no tempo 0), foi feita a administração da glicose a 50%, por meio da gavagem com o auxílio de uma agulha específica para essa finalidade (BONTHER – BONTHER). Em seguida, foi esperado o tempo do protocolo seguido para realizar as próximas três aferições de maneira pontual do índice glicêmico dos animais, sendo realizadas no tempo (em minutos) após a gavagem (30, 60 e 120). Por fim, após a obtenção dos dados, foi feita a curva do índice glicêmico dos animais e a comparação entre os indivíduos do mesmo grupo, afim de identificar possíveis indivíduos que pudessem apresentar resistência a captação da glicose na corrente sanguínea.

### 3.8 AVALIAÇÃO DA MASSA DOS ÓRGÃOS

No último dia do experimento foi realizada a perfusão dos animais e a retirada de alguns órgãos : baço, fígado, testículos e pulmões para avaliar sua massa. As estruturas mencionadas foram colocadas sobre um vidro de relógio e prontificados na balança analítica SHIMADZU para quantificação dos dados e anotação dos mesmos. Para avaliar a massa do órgão de acordo com a massa do animal, foi utilizada a seguinte fórmula matemática:

$$\left( \frac{\text{Massa do órgão}}{\text{Massa do animal}} \right) = \text{Valor em gramas}$$

### 3.9 AVALIAÇÃO DE INGESTÃO DOS ALIMENTOS

Para avaliar o efeito do CL na ingestão alimentar dos animais, foi utilizado uma balança portátil DICOBEM, para mensurar a quantidade de alimentos ingeridos nos dias 38º, 44º e 48º. Para calcular o volume consumido pelos animais de acordo com sua massa corporal, foi utilizado da seguinte fórmula:

$$\left( \frac{\text{Massa do animal individual}}{\text{Massa total da caixa}} \right) \times \text{Consumo}$$

O consumo foi calculado através do consumo inicial da caixa menos seu consumo final.

### 3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

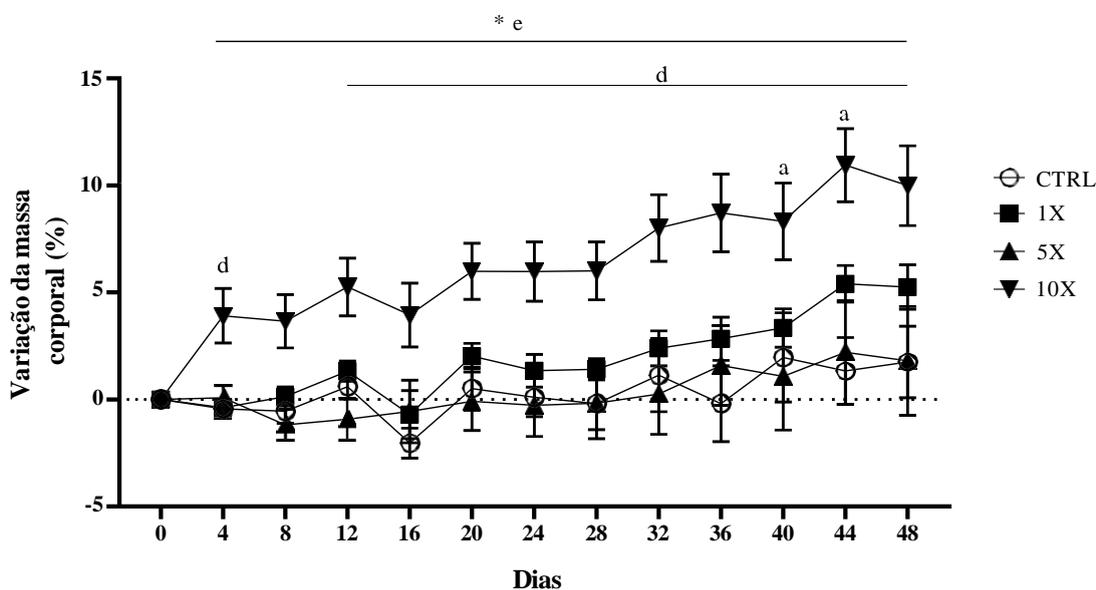
Inicialmente os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, após demonstrarem distribuição normal para as variáveis, foram feitos os testes paramétricos de acordo com os parâmetros a serem avaliados. Em todos os testes os dados apresentaram distribuição normal pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk seguidos pelos pós-testes de Fischer, obtendo  $p > 0,05$ . Os dados são expressos em média  $\pm$  erro padrão de média ( $\pm$  E.P.M), sendo considerado como nível de significância quando atingido o valor de  $p \leq 0,05$ . As análises foram realizadas pelo programa estatístico Graphpad Prism 8.0.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DA MASSA CORPORAL

Na avaliação da massa corporal, o grupo 10X através da ANOVA de duas vias repetidas reportou efeito significativo de tempo (dias de tratamento) [ $F(12,338) = 5,721$ ;  $p = 0,0001$ ], Efeito de tratamento (grupos experimentais) [ $F(3,338) = 56,58$ ;  $p = 0,0001$ ] a partir do dia 4 até o término do experimento, este grupo obteve maior ganho de massa quando comparado aos demais grupos ( $9,98 \pm 1,86$ ). Quando comparados os dados dos grupos ao longo de todo o experimento, o pós-teste de Fisher LSD revelou diferença significativa com ganho de massa no grupo 10x na comparação entre o s grupos de 1X, 5X e CTL , com os seguintes valores de p: (10X vs CTL,  $p = 0,0001$ ; 10X vs 1X,  $p = 0,0152$ ; 10X vs 5X,  $p = 0,0001$ ).

No dia 4, o pós-teste de Fischer LSD, demonstrou diferença significativa na comparação entre os grupos 10X vs CTL ( $p = 0,0258$ ), 1X vs 10X ( $p = 0,0277$ ), 5X vs 10X ( $p = 0,418$ ), já no dia 8 a diferença permaneceu nos grupos CTL vs 10X ( $p = 0,0310$ ) e 5X vs 10X ( $p = 0,0011$ ). Do dia 12 até o dia 48, as diferenças estatísticas permaneceram entre os grupos CTL vs 10X ( $p = 0,0001$ ), 1X vs 10X ( $p = 0,0152$ ) e 5X vs 10X ( $p = 0,0001$ ) (Fig 2).

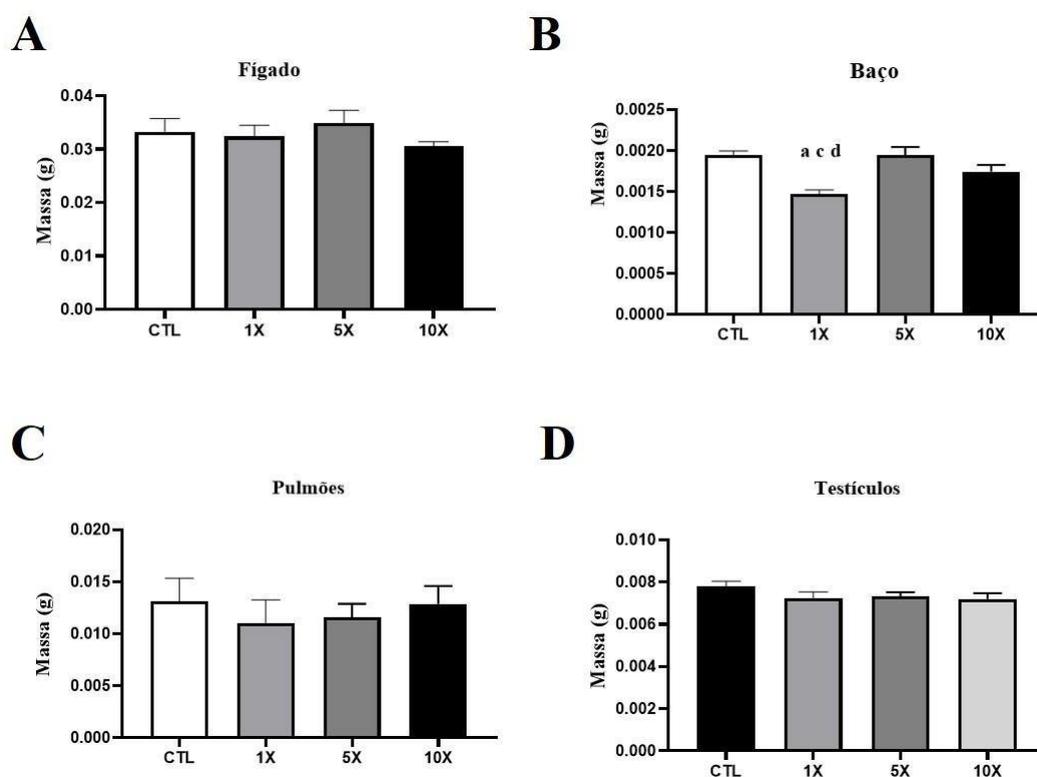


**Figura 2:** Efeito da inalação crônica de clethodim (0,06%, 0,03% e 0,6%) ou veículo sobre variações da massa corporal de ratos adultos. Observa-se que os animais do grupo 10X apresentaram maior ganho de massa corporal, quando comparados aos demais grupos. Os valores são expressos como média  $\pm$  E.P.M e

significância \* $p < 0,05$  para diferenças entre (CTL vs 10X); a (CTL vs 1X); c (1X vs 5X); d (1X vs 10X); e (5X vs 10X) (ANOVA de duas vias com medidas repetidas seguida pelo pós-teste de Fisher LSD).

## 4.2 MASSA DOS ÓRGÃOS

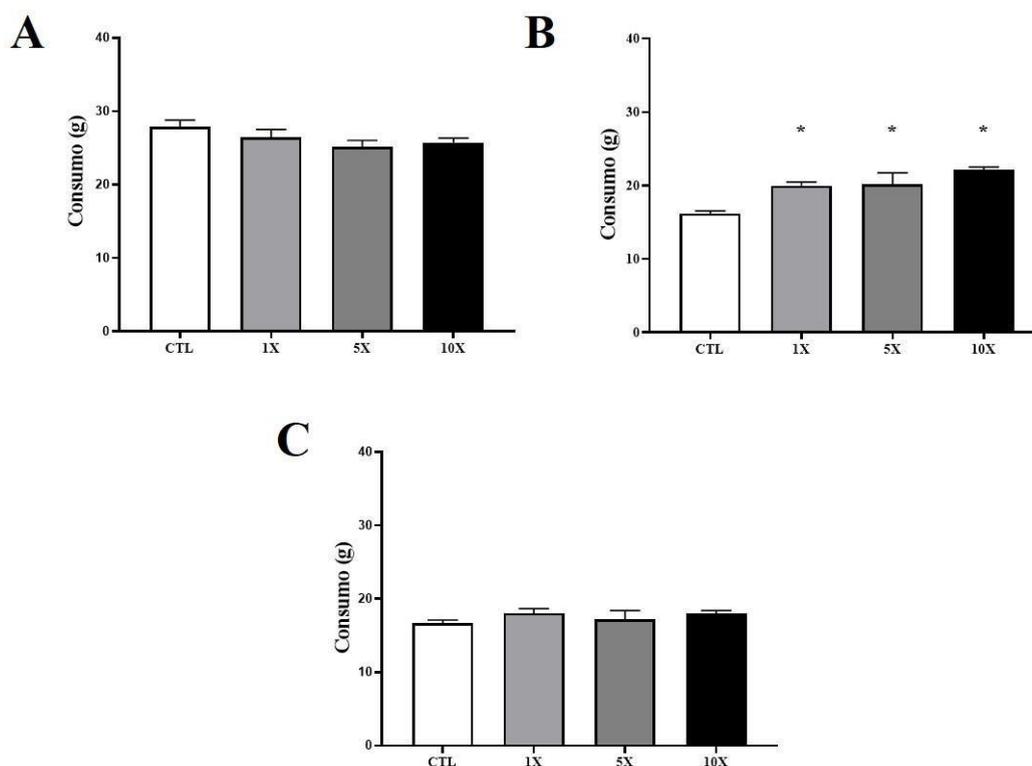
Na avaliação da massa dos órgãos selecionados, a ANOVA de uma via reportou efeito de tratamento para o baço [F (3, 26) = 8,212;  $p = 0,0005$ ] (Fig 3 B), pelo pós-teste de Fischer o grupo 1X demonstrou diminuição da massa deste órgão comparado aos demais tratamentos: CTL vs 1X ( $p = 0,0003$ ), 1X vs 5X ( $p = 0,0002$ ) e 1X vs 10X ( $p = 0,0204$ ). Na avaliação dos demais órgãos não houve diferenças significativas, fígado [F (3, 26) = 0,7886 ( $p = 0,5112$ )] (Fig 3 A), pulmões [F (3, 26) = 0,2750 ( $p = 0,8429$ )] (Fig 3 C), e testículos [F (3, 26) = 1,081 ( $p = 0,3746$ )] (Fig 3 D).



**Figura 3:** Efeito da inalação crônica de clethodim (0,06%, 0,03% e 0,6%) ou veículo sobre variações da massa do baço de ratos adultos. Observa-se que os animais do grupo 1X apresentaram uma redução de massa, quando comparados aos demais grupos. Os valores são expressos como média  $\pm$  E.P.M e significância \* $p < 0,05$  para diferenças entre, c-(CTL vs 1X); a (1X vs 5X); e (1X vs 10X) (ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Fisher LSD).

### 4.3 CONSUMO ALIMENTAR

A avaliação do consumo alimentar foi realizada em três momentos, nos dias 38, 44 e 48. A ANOVA de uma via não reportou efeito de tratamento para o dia 38 ( $p = 0,1812$ ), mas reportou no dia 44 [ $F(3, 26) = 7,443$ ;  $p = 0,0009$ ], pelo pós-teste de Fischer LSD, foi todos os grupos que receberam o CL apresentaram consumo maior que o CTL: CTL vs 1X ( $p = 0,0082$ ), CTL vs 5X ( $p = 0,0043$ ) e CTL vs 10X ( $p = 0,0001$ ). Na última avaliação feita no dia 48, não houve efeito de tratamento entre os grupos ( $p = 0,5593$ ).



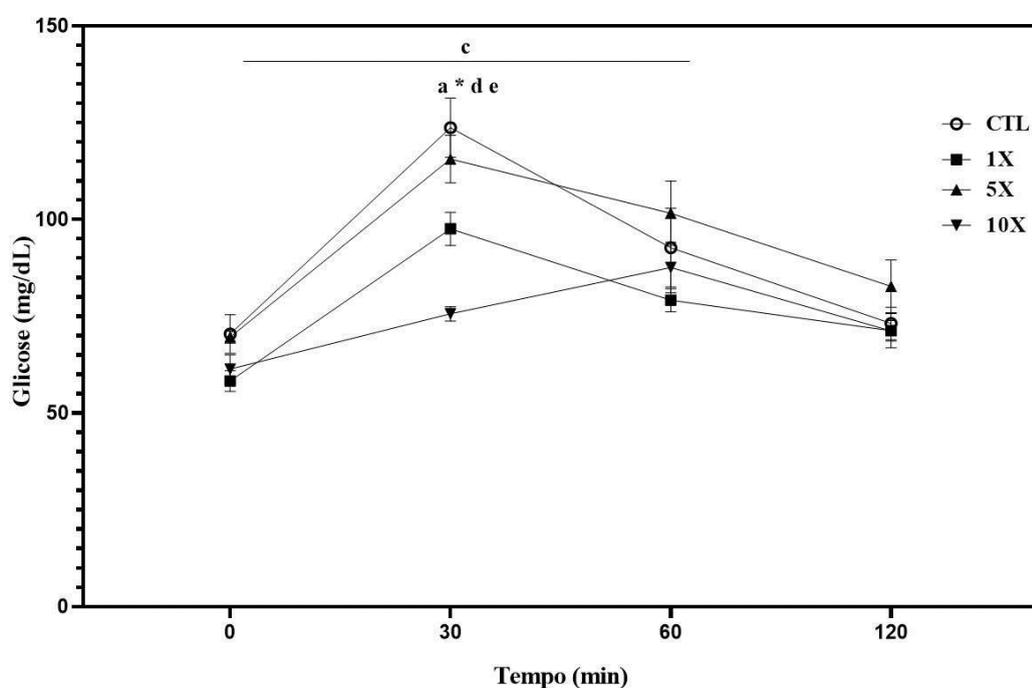
**Figura 4:** Efeito da inalação crônica de clethodim (0,06%, 0,03% e 0,6%) ou veículo sobre variações no consumo alimentar de ratos adultos. Observa-se que os animais do grupo 1X, 5X e 10X apresentaram maior consumo de alimentos, quando comparados ao CTL. Os valores são expressos como média  $\pm$  E.P.M e significância  $*p < 0,05$  para diferenças entre  $*(CTL vs 1X)$ ;  $*(CTL vs 5X)$ ;  $*(CTL vs 10X)$  (ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Fisher LSD).

### 4.4 ÍNDICE GLICÊMICO

Na ANOVA de duas vias com medidas repetidas, foi observado efeito de tempo nos grupos [ $F(3, 104) = 38,09$ ;  $p = 0,0001$ ] e tratamento [ $F(3, 104) = 11,88$ ;  $p = 0,0001$ ], pelo pós-teste de Fischer, no tempo 0, apenas os grupos 5X vs 1X apresentaram diferenças

quanto a disponibilidade de glicose em sua corrente sanguínea ( $p = 0,017$ ); após 30 minutos, todos os grupos diferiram entre si com aumento no seu índice glicêmico, o CTL apresentou maior aumento, quando comparado ao grupo 1X ( $p = 0,017$ ) e 10X ( $p = 0,0008$ ); o grupo 5X demonstrou aumento quando comparado ao grupo 1X ( $p = 0,0124$ ); o grupo 10X permaneceu com menor índice do que os grupos 1X ( $p = 0,0024$ ) e 5X, ( $p = 0,0006$ ); exceto o CTL vs 5X ( $p = 0,331$ ). Durante o tempo 60 e 120 minutos, não houve diferenças significativas entre os grupos.

Além da análise realizada entre os grupos, foi feita uma avaliação dos valores ao longo do tempo dos animais de forma individual, sendo observado que todos os animais entre o tempo 0 até o minuto 30, exceto o grupo 10X ( $p = 0,059$ ), demonstram maior disponibilidade de glicose em seu sangue. Na comparação do minuto 0 vs 60, todos os animais de acordo com o pós-teste de Fischer demonstram ter um aumento na disponibilidade de glicose; entre o tempo 0 vs 120 não houve diferenças entre os animais. No tempo 30 vs 60, os grupos CTL ( $p = 0,0002$ ) e 1X ( $p = 0,0231$ ) apresentaram um aumento, mas os grupos 5X ( $p = 0,063$ ) e o 10X ( $0,1114$ ) não demonstraram diferenças significativas. Entre 60 vs 120, os grupos CTL ( $p = 0,0160$ ) e 1X ( $p = 0,3278$ ) demonstraram diferenças, enquanto os demais grupos não se diferiram. No final do teste, todos os indivíduos voltaram a valores semelhantes aos dados da sua aferição basal.



**Figura 5:** Efeito da inalação crônica de Clethodim (0,06%, 0,03% e 0,6%) ou veículo sobre o índice glicêmico de ratos adultos. Observa-se que os animais do grupo 10X apresentou atraso no pico de níveis glicêmicos, quando comparados aos demais grupos. Os valores são expressos como média  $\pm$  E.P.M e significância \* $p < 0,05$  para diferenças entre, c-(1X vs 5X ); a-(CTL vs 1X); \*(CTL vs 10X ); d-(1X vs 10X); e-(5X vs 10X) (ANOVA de duas vias com medidas repetidas seguida pelo pós-teste de Fisher LSD).

## 5 DISCUSSÃO

Diante a busca em analisar os efeitos da exposição crônica pelo Clethodim sobre alterações glicêmicas e de massa corporal, os resultados demonstraram uma alteração entre os grupos tratamentos, promovendo um maior aumento na massa corporal, atraso no índice glicêmico, inalteração do consumo alimentar e aumento no órgão do baço.

Existem estudos que demonstram de forma comumente o aumento da massa corporal associados ao uso de agrotóxicos, como demonstrados nos trabalhos de (Skonieski et al., 2022; Noppakun; Juntarawijit, 2022; Jiang; Peng; Sun, 2022). Nosso estudo demonstrou que o grupo 10X apresentou massa corpórea superior perante a maior concentração no uso do CL comparado aos demais grupos. Nesse sentido, buscamos na literatura possíveis trabalhos realizados com animais capazes de promover uma consideração para o evento ocorrido e notamos a presença de inúmeros trabalhos na literatura a qual associam a exposição entre agrotóxicos e diminuição na massa corporal, contradizentes aos nossos achados (Abuzeid et al., 2021; Karuppagounder et al., 2012; HU et al., 2019).

A administração do CL em nosso trabalho foi capaz de causar aumento do peso da massa corporal, embora de acordo com um estudo com CL no modelo animal de peixes zebras (Xiong et al., 2019), este foi capaz de causar uma redução da massa dos animais. No trabalho de (Mostafalou; Abdollahi, 2017) a administração em doses subletais do CL foi capaz de causar perda severa da massa corporal, sendo dados contrários ao que foi encontrado em nosso trabalho. Alguns estudos demonstraram que a formulação de glifosato pode aumentar a peroxidação lipídica e a atividade da superóxido dismutase, o que pode ser um indicativo de estresse oxidativo induzido em fibroblastos resultando em seu aumento (Czajka et al., 2019).

Desse modo, estudos realizados com outros agentes químicos sustentam a hipótese de que o processo de lipogênese na expressão de enzimas que acentuam a expressão de ácidos graxos e Triglicerídeos (Lasram et al., 2015), o que pode justificar o

aumento de massa corporal visto em nossos achados com CL. Alguns autores apoiam a ideia de que o aumento da massa corporal seja influenciado pelo efeito de bioacumulação que os agrotóxicos desempenham nos organismos vivos, não sendo biodegradados em outros compostos, como também podem alterar o funcionamento de outras enzimas.

Na aferição do índice glicêmico, os animais que receberam do grupo 10X apresentaram atraso para atingirem o seu pico glicêmico, sendo possivelmente um déficit no tempo de absorção da glicose para ser metabolizada pelas células. Em trabalhos na literatura com outros agrotóxicos, foi demonstrado que alguns princípios ativos são capazes de causar problemas na sinalização da insulina liberada pelo pâncreas ou diminuir a quantidade de receptores para insulina na célula, fazendo com que ocorra mudanças na absorção da glicose ao longo do tempo (Acker; Nogueira, 2012; Boaventura et al., 2023; Bollen et al., 1998; Joshi; Rajini, 2009; Kale et al., 2021; Kamath; Rajini, 2007; Sadeghi-Ha et al., 2008).

Na pesagem dos órgãos, os animais do grupo 1X apresentaram uma redução significativa na massa do baço, porém, nos estudos realizados em ratos e camundongos sob a administração de compostos químicos e uso de pesticidas, foi observado o aumento do mesmo em suas análises (Abolaji et al., 2017; Mitra et al., 2012; Zhu et al., 2022). No entanto, mediante as pesquisas efetuadas, foi possível detectar no trabalho de Zhang et al., (2018) , uma diminuição no baço ao analisar lesões cerebrais em respostas imunológicas, fornecendo desse modo a definição clínica para este acontecimento denominado de Hipoesplenismo. Em virtude dos processos realizados em nossos experimentos e na análise de dados, nossos estudos sugerem na possibilidade de uma alteração na resposta imune do grupo 1X, modificando a produção e maturação de linfócitos B e substâncias como a opsonina (Kirkineska et al., 2014).

Na ingestão alimentar, os animais que foram expostos ao CL em todas as concentrações, tiveram uma maior ingestão de alimentos, dito isso, buscamos na literatura trabalhos que analisassem esse fator, porém, os projetos realizados identificando esse parâmetro demonstraram uma diminuição na ingestão, em suas análises (Giaquinto et al., 2017; Zaya et al., 2011). À medida que as pesquisas foram realizadas, percebemos que não houveram quantidades significativas de trabalhos que buscassem analisar estes critérios, com isso, são necessários mais estudos para compreender melhor possíveis indicadores destes resultados.

## **6 CONCLUSÃO**

A exposição crônica a uma concentração elevada de CL, por inalação, foi capaz de provocar um aumento da massa corporal e uma redução da curva de resposta de índices glicêmicos. Além disso, foi observada um aumento com relação a massa do baço e um aumento da ingestão por alimentos entre os grupos de animais.

## **7 PERSPECTIVAS**

Assim, para melhor compreensão acerca dos efeitos desencadeados pelo CL, pretendemos realizar análises de imuno-histoquímica, para observar sua provável ação em níveis de danos neurais.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOLAJI, A. O., AWOGBINDIN, I. O., ADEDARA, I. A., & FAROMBI, E. O. (2017). Insecticide chlorpyrifos and fungicide carbendazim, common food contaminants mixture, induce hepatic, renal, and splenic oxidative damage in female rats. **Human & Experimental Toxicology**, 36(5), 483–493.

ABUZEID, M. A. F., HAMADA, S. H. E., EL-DANASOURY, H. M., & KHOZIMY, A. M. H. (2021). Sub-acute toxicity of two herbicides halosulfuron-methyl and clethodim on biochemical and hematological parameters in male albino rats.

ACKER, C. I., & NOGUEIRA, C. W. (2012). Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. **Chemosphere**, 89(5), 602–608.

ANDREOTTI, G. et al. Glyphosate Use and Cancer Incidence in the Agricultural Health Study. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 110, n. 5, p. 509–516, 1 maio 2018.

AUSTIN, K. W.; AMERINGER, S. W.; CLOUD, L. J. An Integrated Review of Psychological Stress in Parkinson's Disease: Biological Mechanisms and Symptom and Health Outcomes. **Parkinson's Disease Hindawi Publishing Corporation**, , 2016.

BALTAZAR, M.T., DINIS-OLIVEIRA, R.J., DE LOURDES BASTOS, M., TSATSAKIS, A.M., DUARTE, J.A., CARVALHO, F. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's Disease and other neurodegenerative Disease – a mechanistic approach. **Toxicol Lett**, 230(2): 85-103, 2014.

BOAVENTURA, F., KURITZA, L. N., KAELE, G. C. B., BASTOS, T. S., OLIVEIRA, S. G., & FÉLIX, A. P. (2023). Evaluation of postprandial glycemic response in rats (Wistar) fed with different starch sources. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 107(S1), 11–17.

BOLLEN, M., KEPPENS, S., & STALMANS, W. (1998). Specific features of glycogen metabolism in the liver. **The Biochemical Journal**, 336(1), 19–31.

BOOBIS, A. R. et al. IPCS Framework for Analyzing the Relevance of a Cancer Mode of Action for Humans. **Critical Reviews in Toxicology**, Boca Raton, v. 36, n. 10, p. 781–792, 2006.

CHANG, F.-C.; SIMCIK, M. F.; CAPEL, P. D. Occurrence and fate of the herbicide glyphosate and its degradate aminomethylphosphonic acid in the atmosphere. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 30, n. 3, p. 548–555, 2011.

BELCHIOR, D. et al. Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana, 2014.

COSTAS-FERREIRA, C.; DURÁN, R.; FARO, L. R. F. Toxic effects of glyphosate on the nervous system: A systematic review. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 9, p. 4605, 2022.

CZAJKA, M., MATYSIAK-KUCHAREK, M., JODŁOWSKA-JĘDRYCH, B., SAWICKI, K., FAL, B., DROP, B., KRUSZEWSKI, M., & KAPKA-SKRZYPCZAK, L. (2019). Organophosphorus pesticides can influence the development of obesity and type 2 diabetes with concomitant metabolic changes. **Environmental Research**, 178(108685), 108685.

D., M. P. V.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. Disponível em: <<https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201712/06131757-comportamento-ambiental-do-glifosato.pdf>>. Acesso em: 22 jul. 2023.

GAMEIRO, R. L. **Instituto superior de ciências da saúde egas Moniz**, 2016.

Giaquinto, P. C., de Sá, M. B., Sugihara, V. S., Gonçalves, B. B., Delício, H. C., & Barki, A. (2017). Effects of glyphosate-based herbicide sub-lethal concentrations on fish feeding behavior. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 98(4), 460–464.

GIZA, E., GOTZAMANI-PSARRAKOU, A., BOSTANTJOPOULOU, S. Imaging beyond the striatonigral dopaminergic system in Parkinson's disease. **Hell J Nucl Med.**, 15 (3): 224-32, 2012.

HAYES, M. T. Parkinson's Disease and Parkinsonism. **American Journal of Medicine Elsevier Inc.**, , 1 jul. 2019.

HU, J. et al. The mechanism of damage in the midgut of *Bombyx mori* after chlorantraniliprole exposure. **Ecotoxicology** (London, England), v. 28, n. 8, p. 903–912, 2019.

JIANG, F.; PENG, Y.; SUN, Q. Pesticides exposure induced obesity and its associated diseases: recent progress and challenges. **Journal of Future Foods**, v. 2, n. 2, p. 119–124, 2022.

JOSHI, A. K. R., & RAJINI, P. S. (2009). Reversible hyperglycemia in rats following acute exposure to acephate, an organophosphorus insecticide: Role of gluconeogenesis. **Toxicology**, 257(1–2), 40–45.

KALE, O. E., VONGDIP, M., OGUNDARE, T. F., & OSILESI, O. (2021). The use of combined high-fructose diet and glyphosate to model rats type 2 diabetes symptomatology. **Toxicology Mechanisms and Methods**, 31(2), 126–137.

KAMATH, V., & RAJINI, P. (2007). Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication. **Toxicology**, 231(2–3), 137–146.

KARUPPAGOUNDER, S. S., AHUJA, M., BUABEID, M., PARAMESHWARAN, K., ABDEL-REHMAN, E., SUPPIRAMANIAM, V., & DHANASEKARAN, M. (2012). Investigate the chronic neurotoxic effects of diquat. **Neurochemical Research**, 37(5), 1102–1111.

KIRKINESKA, L., PERIFANIS, V., & VASILADIS, T. (2014). Functional hyposplenism. **Hippokratia**, 18(1), 7–11.

LASRAM, M. M., BOUZID, K., DOUIB, I. B., ANNABI, A., EL ELJ, N., EL FAZAA, S., ABDELMOULA, J., & GHARBI, N. (2015). Lipid metabolism disturbances contribute to insulin resistance and decrease insulin sensitivity by malathion exposure in Wistar rat. **Drug and Chemical Toxicology**, 38(2), 227–234.

MADANI, N. A.; CARPENTER, D. O. Effects of glyphosate and glyphosate-based herbicides like Roundup™ on the mammalian nervous system: A review. **Environmental research**, v. 214, n. Pt 4, p. 113933, 2022.

MAHMOOD, I. et al. Effects of pesticides on environment. Em: Plant, Soil and Microbes: Volume 1: Implications in Crop Science. **Springer International Publishing**, 2016. p. 253–269.

MITRA, S., KESWANI, T., DEY, M., BHATTACHARYA, S., SARKAR, S., GOSWAMI, S., GHOSH, N., DUTTA, A., & BHATTACHARYYA, A. (2012). Copper-induced immunotoxicity involves cell cycle arrest and cell death in the spleen and thymus. **Toxicology**, 293(1–3), 78–88.

MONQUERO, P. A. PLANTAS TRANSGÊNICAS RESISTENTES AOS HERBICIDAS: SITUAÇÃO E PERSPECTIVAS, 2005.

NOPPAKUN, K.; JUNTARAWIJIT, C. Association between pesticide exposure and obesity: A cross-sectional study of 20,295 farmers in Thailand. **F1000Research**, v. 10, p. 445, 2022.

PEILLEX, C.; PELLETIER, M. The impact and toxicity of glyphosate and glyphosate-based herbicides on health and immunity. **Journal of immunotoxicology**, v. 17, n. 1, p. 163–174, 2020.

PERES, F. et al. AGROTÓXICOS, SAÚDE E AMBIENTE: uma introdução ao tema, 2003.

SADEGHI-HA, G., MOSLEMI, M., & JAVADI, S. (2008). The effect of organophosphate pesticides on the blood glucose levels in the mouse. *Pakistan journal of biological sciences*: **PJBS** 11(9), 1290–1292.

SAVOY, V. L. T. Classificação dos agrotóxicos. **Biológico**, v. 73, n. 1, p. 91–92, 2011.

SIMONI-BERRA, M. A., YÁÑEZ-SANTOS, J. A., GIRÓN-ORTIZ, J. A., HUERTA-LARA, M., & CEDILLO-RAMÍREZ, M. L. (2023). Efecto de los probióticos en los niveles de glucosa y el incremento de peso en ratones expuestos a dosis bajas de malatión. **Gaceta medica de Mexico**, 159(1).

SKONIESKI, C. et al. Exposure to pesticides and overweight - A systematic review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e596111436493, 2022.

TILSON, H. A., MACPHAIL, R. C., & Crofton, K. M. (1995). Defining neurotoxicity in a decision-making context. **Neurotoxicology**, 16(2), 363–375.

VAN BRUGGEN, A. H. C. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **The Science of the total environment**, v. 616–617, p. 255–268, 2018.

VARGHESE, J. V. et al. Pesticide applicators and cancer: A systematic review. **Reviews on Environmental Health** De Gruyter Open Ltd, , 1 dez. 2021.

WANG, H. et al. Clethodim exposure induced development toxicity and behaviour alteration in early stages of zebrafish life. **Environmental pollution** (Barking, Essex: 1987), v. 255, n. Pt 1, p. 113218, 2019.

XIONG, G. et al. Clethodim exposure induces developmental immunotoxicity and neurobehavioral dysfunction in zebrafish embryos. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 86, p. 549–558, 1 mar. 2019.

ZAYA, R. M., AMINI, Z., WHITAKER, A. S., KOHLER, S. L., & IDE, C. F. (2011). Atrazine exposure affects growth, body condition and liver health in *Xenopus laevis* tadpoles. **Aquatic Toxicology** (Amsterdam, Netherlands), 104(3–4), 243–253.

ZHANG, J., SHI, K., LI, Z., LI, M., HAN, Y., WANG, L., ZHANG, Z., YU, C., ZHANG, F., SONG, L., DONG, J.-F., LA CAVA, A., SHETH, K. N., & SHI, F.-D. (2018). Organ- and cell-specific immune responses are associated with the outcomes of intracerebral hemorrhage. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, 32(1), 220–229.

ZHU, S., LIU, Y., LI, Y., YI, J., YANG, B., LI, Y., OUYANG, Z., LIU, B., SHANG, P., MEHMOOD, K., ABBAS, R. Z., AHMED, S., CHANG, Y.-F., GUO, J., PAN, J., HU, L., TANG, Z., LI, Y., & ZHANG, H. (2022). The potential risks of herbicide butachlor to immunotoxicity via induction of autophagy and apoptosis in the spleen. **Chemosphere**, 286(131683), 131683.

## **9 OUTRAS ATIVIDADES**

Apresentei participação do minicurso intitulado “Agrotóxicos: o perigo invisível que afeta o nosso cérebro”, durante VI Simpósio de Ciências Naturais de Sergipe no dia 07 de Junho de 2023, com carga horária de 2 horas.

Obtive participação no curso de “Princípios éticos e manejo de animais em pesquisa”, módulo Roedores, com carga horária total de 40 horas, em formato de ensino a distância, coordenado pela Central de Bioterismo do Instituto de Ciências Biomédicas

em parceria com a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Participo também das reuniões semanais do laboratório, manutenção dos animais e experimentos dos integrantes do grupo de pesquisa.

## **10 JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO PLANO DE TRABALHO**

Inicialmente, estava previsto o uso do composto glifosato. Entretanto, um mês antes do início dos experimentos foi publicado um artigo científico apresentando delineamento experimental semelhante e que respondia a nossa questão de trabalho a ser investigada. Nesse sentido, submetemos um novo processo no comitê de ética e alteramos o composto a ser testado.

## 11 ANEXO



Universidade  
Federal de  
Sergipe

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E MONOAMINÉRGICAS APÓS EXPOSIÇÃO REPETIDA DE CLETHODIM EM RATOS", protocolada sob o CEUA nº 5228100323 (ID 000652), sob a responsabilidade de **José Ronaldo dos Santos** e equipe; *Abraão de Jesus Barbosa; Auderlan Mendonça de Gois; Milena Caroline Nunes Monteiro; José Leandro Santos Souza; Ana Cleia Alves Da Luz; Mylaine Santos Mendonça; Heitor Franco Santos; João Eduardo Conceição Melo; Lívia Cristina Rodrigues Ferreira Lins* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) na reunião de 22/03/2023.

We certify that the proposal "BEHAVIORAL AND MONOAMINERGIC CHANGES AFTER REPEATED EXPOSURE TO CLETHODIM IN RATS", utilizing 32 Heterogenic rats (32 males), protocol number CEUA 5228100323 (ID 000652), under the responsibility of **José Ronaldo dos Santos** and team; *Abraão de Jesus Barbosa; Auderlan Mendonça de Gois; Milena Caroline Nunes Monteiro; José Leandro Santos Souza; Ana Cleia Alves Da Luz; Mylaine Santos Mendonça; Heitor Franco Santos; João Eduardo Conceição Melo; Lívia Cristina Rodrigues Ferreira Lins* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Sergipe (CEUA/UFS) in the meeting of 03/22/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 05/2023 a 05/2024      Área: Fisiologia

|           |   |        |             |
|-----------|---|--------|-------------|
| Origem:   | Biotério da Universidade Federal de Sergipe |        |             |
| Espécie:  | Ratos heterogênicos                         | sexo:  | Machos      |
|           |   | idade: | 6 a 8 meses |
|           |   | N:     | 32          |
| Linhagem: | Rattus norvegicus/Wistar                    | Peso:  | 350 a 450 g |

Local do experimento: Os animais estarão alocados no Laboratório de Neurofisiologia (LNFS) durante realização dos experimentos, sendo o biotério de apoio o Biotério setorial, ambos localizados no departamento de fisiologia.

São Cristóvão, 29 de março de 2023

Prof. Dr. Josemar Sena Batista  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Sergipe