

ISABELA PEREIRA DA SILVA BENTO

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO SUBAGUDA À DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO
HERBICIDA CALARIS® SOBRE PARÂMETROS HEPÁTICOS EM
CAMUNDONGOS SWISS ADULTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Mariana Machado Neves

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

B478e
2024 Bento, Isabela Pereira da Silva, 1997-
Efeitos da exposição subaguda à diferentes concentrações
do herbicida Calaris® sobre parâmetros hepáticos em
camundongos Swiss adultos / Isabela Pereira da Silva Bento. –
Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (72 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Mariana Machado Neves.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral, 2024.

Referências bibliográficas: f. 51-72.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.585>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Fígado - Efeito dos herbicidas - Análise.
2. Camundongos - Efeito dos herbicidas. 3. Atrazina (Herbicida).
4. Mesotriona (Herbicida). 5. Citocinas. 6. Adenosina
trifosfatase. 7. Aspartato aminotransferase. 8. Alanina
transaminase. I. Neves, Mariana Machado, 1977-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia
Geral. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e
Estrutural. III. Título.

CDD 22. ed. 573.38


ISABELA PEREIRA DA SILVA BENTO

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO SUBAGUDA À DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO
HERBICIDA CÁLARIS® SOBRE PARÂMETROS HEPÁTICOS EM
CAMUNDONGOS SWISS ADULTOS**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de junho de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **ISABELA PEREIRA DA SILVA BENTO**
Data: 14/09/2024 09:24:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Isabela Pereira da Silva Bento
Autora

Documento assinado digitalmente
 **MARIANA MACHADO NEVES**
Data: 14/09/2024 09:30:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Mariana Machado Neves
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Á Deus por guiar meus passos e estar ao meu lado nos momentos mais difíceis.

À minha mãe, Silvane, minha eterna gratidão pelo amor incondicional, pelo apoio incansável, pela força e por acreditar em mim sem hesitar. Se hoje cheguei até aqui, foi graças a você. Agradeço também ao meu pai, Marcelo, e aos meus irmãos, pela confiança que sempre depositaram em mim. Ao meu avô José, que, mesmo em outro plano, esteve presente em todos os momentos importantes da minha jornada.

Ao Tiago, meu companheiro, que esteve ao meu lado durante toda a graduação e agora na pós-graduação. Te amo e sou profundamente grata por sua presença, por seu apoio nas mais diversas situações e por ser meu refúgio.

Agradeço ao meu fiel amigo Caio. Você teve um papel crucial na minha formação pessoal e profissional, sempre me ajudando em escolhas importantes. Durante esses anos de convívio diário, me proporcionou conforto e novas experiências, além de ser um grande incentivador do meu trabalho. Nossas conversas, risadas, cumplicidade e conselhos foram inestimáveis e merecem ser eternamente lembrados.

Às minhas companheiras leais, Mírian, Thainá e Izabela, por estarem ao meu lado nos momentos difíceis, por serem minha companhia e razão quando me senti perdida. Ao meu amigo Luiz Otávio, pela orientação tanto na vida acadêmica quanto pessoal. Passamos por muitos momentos juntos que foram verdadeiras lições de vida, agradeço a vocês pelos momentos divertidos e pelo suporte diário.

Às minhas queridas amigas, Beatriz e Bruna, sou grata pelas conversas, pelo companheirismo, pelo incentivo e por acreditarem no meu potencial. Desejo que nossa amizade dure para sempre.

Aos amigos do Laboratório de Reprodução Animal e Toxicologia (LARAT), Luiz Otávio, Thainá, Mírian, Izabela, Alex, Gabriela, Luís Miguel, João, Ana Paula, Juliana, Camilo,

Isabella, Renner, Tayná, Arabela e Iara. Obrigada pelos momentos de café, pelas risadas e por contribuírem para o desenvolvimento do meu trabalho. A presença de vocês tornou o mestrado mais leve.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Mariana, minha gratidão pela oportunidade de trabalho e confiança. Obrigada por me instruir, por me ensinar a discernir o melhor caminho e por incentivar meu crescimento, me permitindo explorar novos horizontes.

À Universidade Federal de Viçosa, aos seus funcionários e professores, pelo apoio e suporte.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

BENTO, Isabela Pereira da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2024. **Efeitos da exposição ao herbicida subaguda à diferentes concentrações do herbicida Calaris® sobre parâmetros hepáticos em camundongos Swiss adultos.** Orientadora: Mariana Machado Neves.

Misturas de herbicidas são usadas na agricultura para ampliar o espectro de ação contra plantas daninhas, como a combinação de atrazina e mesotriona no herbicida Calaris®. Os efeitos isolados da atrazina e mesotriona já são documentados, porém os efeitos do Calaris® em vertebrados ainda são desconhecidos. Este estudo teve como objetivo avaliar a exposição subaguda ao herbicida Calaris® no fígado de camundongos Swiss adultos. Os camundongos (70 dias de idade) foram divididos em três grupos (n = 10/grupo): controle (água filtrada) e dois grupos Calaris® (0,2 e 2,0mg kg⁻¹), com exposição diária, administrada por gavagem, por 7 e 14 dias. Após cada período, cinco animais de cada grupo foram eutanasiados (CEUA 33/2023). O sangue foi coletado para análises bioquímicas. Os fígados foram removidos para análises bioquímicas, enzimáticas, histológicas e de citocinas. Os dados foram submetidos aos testes One-way ANOVA e Tukey, com significância de P < 0,05. A exposição subaguda ao Calaris® resultou em aumento nas concentrações séricas de AST e ALT, concentração hepática IL-2, IL-6 e redução na atividade de Na⁺/K⁺ ATPase. Observou-se congestão e infiltrado inflamatório no fígado dos animais expostos, além de vacuolização citoplasmática em hepatócitos. A exposição ao herbicida Calaris® em período subagudo desencadeou um processo dano hepático com alterações possivelmente reversíveis.

Palavras-chave: Fígado; Atrazina; Mesotriona; Citocinas pró-inflamatórias; ATPase; AST; ALT

ABSTRACT

BENTO, Isabela Pereira da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2024. **Effects of subacute exposure to different concentrations of Calaris® herbicide on hepatic parameters in adult Swiss mice.** Adviser: Mariana Machado Neves.

Herbicide mixtures are used in agriculture to increase the spectrum of action against weeds, such as the combination of atrazine and mesotrione in Calaris® herbicide. The isolated effects of atrazine and mesotrione are already documented, but the effects of Calaris® on vertebrates remain unknown. This study aimed to evaluate the subacute exposure to the herbicide Calaris® on the liver of adult Swiss mice. Mice (70 days old) were divided into three groups (n = 10/group): control (filtered water) and two Calaris® groups (0.2 and 2.0 mg kg⁻¹), with daily exposure, administered by gavage, for 7 and 14 days. After each period, five animals from each group were euthanized (CEUA 33/2023). Blood was collected for biochemical analysis. Livers were removed and processed for biochemical, enzymatic, histological, and cytokine analyses. The data were subjected to One-way ANOVA and Tukey's tests, with a significance level of P < 0.05. Subacute exposure to Calaris® resulted in increased serum concentrations of AST and ALT, hepatic concentration of IL-2, and IL-6, as well as a reduction in Na⁺/K⁺ ATPase activity. Congestion and inflammatory infiltrate were observed in the livers of exposed animals, in addition to cytoplasmic vacuolization in hepatocytes. Subacute exposure to the herbicide Calaris® triggered hepatic damage characterized by potentially reversible changes.

Keywords: Liver; Atrazine; Mesotrione; Pro-inflammatory cytokines; ATPase; AST; ALT

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
ATPase	Adenosina trifosfatase
CAT	Catalase
DL ₅₀	Dose letal mediana
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FRAP	Poder antioxidante/redutor férrico
GST	Glutathione S-transferase
HE	Hematoxilina e eosina
IFN	Interferon
IL	Interleucina
MDA	Malondialdeído
NO	Óxido nítrico
PAS	Ácido periódico-Schiff
PC	Proteína carbonilada
SOD	Superóxido dismutase
TNF	Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1. Introdução	9
2. Revisão de literatura	11
2.1 <i>Breve introdução sobre pesticidas e herbicidas seletivos e não-seletivos</i>	<i>11</i>
2.2 <i>Calaris®: herbicida de mistura comercial.....</i>	<i>12</i>
2.3 <i>Funções e estrutura do fígado com foco na neutralização de agentes tóxicos</i>	<i>16</i>
2.4 <i>Biomarcadores de dano hepático</i>	<i>19</i>
2.5 <i>Inflamação</i>	<i>21</i>
2.6 <i>Estresse oxidativo</i>	<i>24</i>
2.7 <i>ATPases Na⁺/K⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺</i>	<i>25</i>
2.8 <i>Análise de elementos químicos</i>	<i>26</i>
2.9 <i>Análise histológica do fígado</i>	<i>27</i>
3. Materiais e métodos.....	28
3.1 <i>Animais</i>	<i>28</i>
3.2 <i>Design experimental</i>	<i>28</i>
3.3 <i>Eutanásia, coleta do fígado e análise biométrica.....</i>	<i>28</i>
3.4 <i>Quantificação de biomarcadores de danos hepáticos.....</i>	<i>29</i>
3.5 <i>Ensaio de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias no fígado.....</i>	<i>29</i>
3.6 <i>Análise de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo</i>	<i>29</i>
3.7 <i>Atividades de ATPases Ca²⁺, Na⁺/K⁺ e Mg²⁺.....</i>	<i>30</i>
3.8 <i>Análise de proporção de elementos químicos.....</i>	<i>30</i>
3.9 <i>Processamento histológico</i>	<i>31</i>
3.10 <i>Análises histológicas.....</i>	<i>31</i>
3.11 <i>Análise estatística</i>	<i>32</i>
4. Resultados	32
4.1 <i>Parâmetros biométricos e bioquímicos</i>	<i>32</i>
4.2 <i>Análise do perfil de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias no fígado.....</i>	<i>35</i>
4.3 <i>Análise de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo</i>	<i>37</i>
4.4 <i>Atividades de ATPases Ca²⁺, Na⁺/K⁺ e Mg²⁺.....</i>	<i>38</i>
4.5 <i>Análise de proporção de elementos químicos.....</i>	<i>38</i>
4.6 <i>Análises histológicas.....</i>	<i>41</i>
5. Discussão	45
6. Conclusão	50
7. Referências	51

1. Introdução

Herbicidas são agentes fitotóxicos principalmente de natureza química, usados na agricultura com o propósito de erradicar plantas daninhas, mitigar perdas na colheita e viabilizar a produção de alimentos mais acessíveis para a população (Manno, 1996). Estes compostos exterminam plantas daninhas ao impactar o desenvolvimento de mudas, agindo como disruptores de membrana celular e inibidores e reguladores de crescimento e afetando a biossíntese de macromoléculas e a fotossíntese (Lushchak et al., 2018). O uso inadequado de herbicidas representa riscos ao ambiente e aos animais, pois seus efeitos podem se estender além dos organismos-alvo. A consequência disto são os impactos negativos sobre a biodiversidade local e a saúde de animais e profissionais envolvidos em atividades do campo (Zaller e Brühl, 2019; Ritchie et al., 2022). A exposição a herbicidas pode ocorrer a partir da ingestão de alimentos e água contaminados, inalação e contato dérmico (Moody et al., 1990; Silva et al., 2013; Nagy et al., 2018; Solomon, 2019).

A atrazina é um dos herbicidas mais usados no mundo para o controle de plantas daninhas em cultivos de sorgo, milho e cana de açúcar. Embora tenha sido proibida pela União Europeia desde 2007, sua venda ainda é permitida no Brasil (Araújo, 2021). A atrazina age sobre as plantas pela interrupção da produção de NADPH e ATP no fotossistema II, inibindo seu crescimento (Müller e Appleby, 2010). A atrazina e seus metabólitos são resistentes à degradação, permanecendo por algum tempo no solo, podendo contaminar águas subterrâneas e superficiais por períodos prolongados (He et al., 2019). A presença de átomos de nitrogênio em seu anel aromático lhe confere toxicidade e durabilidade no ambiente (Boopathy, 2017). Em mamíferos, a exposição à atrazina está correlacionada a efeitos negativos no fígado como a elevação de marcadores de estresse oxidativo (Jin et al., 2014). Além disso, estudos indicam que a atrazina pode desencadear processos inflamatórios no fígado, com aumento de citocinas pró-inflamatórias (Riera et al., 2022).

Já a mesotriona é um herbicida utilizado para o controle de plantas daninhas de folhas largas e gramíneas em culturas como algodão, milho e soja (Carles et al., 2017). Sua venda é permitida em países da União Europeia, Brasil e Estados Unidos (EUR-Lex, 2017). Este herbicida atua na inibição da biossíntese de carotenoides e seus precursores, resultando na degradação da clorofila e causando a morte da planta alvo. A mesotriona é considerada um herbicida menos nocivo ao meio ambiente, por ser derivada de produtos naturais (Felisbino et al., 2018). Apesar de seu lançamento no mercado em 2001, estudos abordando os efeitos da mesotriona em organismos não-alvo foram conduzidos apenas em peixes (Piancini et al., 2015), não sendo descritos em mamíferos até o presente momento.

A junção destes dois herbicidas, na proporção de 10 atrazina:1 mesotriona, gerou o produto químico chamado de Calaris[®], considerado uma evolução da atrazina por proporcionar um uso em concentrações menores que o recomendado para a atrazina pura. Apesar das vantagens apontadas pelo fabricante, há uma escassez de informações acerca dos efeitos que esse produto comercial pode apresentar. Os estudos realizados até o momento estão restritos a invertebrados, como a abelha sem ferrão *Partamona helleri* (Araújo et al., 2021), sem experimentação em outros modelos animais. Diante desse cenário, o presente estudo visou testar a hipótese de que a combinação comercial Calaris[®] causa danos hepáticos em camundongos após exposição por período de tempo subagudo. Para isso, foram definidos os seguintes objetivos, geral e específicos:

Objetivo geral:

- Avaliar os efeitos da exposição de 7 e 14 dias da combinação comercial Calaris[®], nas concentrações de 0,2 e 2 mg kg⁻¹, sobre parâmetros morfológicos, funcionais e oxidativos de fígado de camundongos Swiss machos.

Objetivos específicos:

- Avaliar parâmetros morfológicos hepáticos, como biometria e histologia, após 7 e 14 dias de exposição das duas concentrações de Calaris®;
- Analisar a funcionalidade hepática após a exposição subaguda de Calaris®, nas duas concentrações, considerando a concentração de biomarcadores de dano hepático, atividade de ATPases e a proporção de microminerais no fígado;
- Verificar o efeito da exposição subaguda de Calaris® em parâmetros oxidativos do fígado de camundongos, considerando a atividade de enzimas antioxidantes e a produção de metabólitos de estresse oxidativo;
- Quantificar a concentração de citocinas pró-inflamatórias interleucina-2, interleucina-6, interferon- γ , proteína do fator de necrose tumoral, interleucina-17A e anti-inflamatórias interleucina-4 e interleucina-10 presentes no fígado de camundongos após a exposição subaguda de Calaris® nas concentrações de 0,2 e 2 mg kg⁻¹.

2. Revisão de literatura

2.1 Breve introdução sobre pesticidas e herbicidas seletivos e não-seletivos

Os pesticidas desempenham um papel importante na agricultura moderna, auxiliando no aumento da produção de alimentos e na proteção de culturas contra pragas, doenças e ervas daninhas (Syafudin et al., 2021). Vários tipos de pesticidas, incluindo herbicidas, inseticidas e fungicidas, são comumente usados no aumento da produtividade agrícola, sendo a União Europeia, o Brasil, os Estados Unidos da América e a China os seus maiores utilizadores, com milhões de toneladas utilizadas anualmente (Donley, 2019; Riedo et al., 2021). Os herbicidas são empregados na agricultura para o combate de espécies vegetais indesejadas, inibindo o seu crescimento ou causando a sua morte (Wang et al., 2021; Mehtiyev et al., 2023).

Os herbicidas podem ser categorizados em não seletivos e seletivos. Os herbicidas não seletivos são inespecíficos em sua ação e podem afetar uma ampla gama de espécies de plantas, os tornando adequados para o controle de vegetação indesejada em áreas de instalações industriais, ferrovias e áreas não cultivadas. Exemplos de herbicidas não seletivos incluem glifosato e paraquat (Ujowundu et al., 2020; He et al., 2023). Já os herbicidas seletivos têm como alvo tipos específicos de plantas, sendo adequada para o controle de vegetação indesejada em áreas cultivadas, minimizando danos em plantas não-alvos. Embora a maioria desses herbicidas atinjam seletivamente as ervas daninhas sem prejudicar significativamente as culturas de interesse, o seu uso intensivo na agricultura pode levar a mudanças importantes nas espécies vegetais, incluindo o desenvolvimento de resistência das ervas daninhas aos herbicidas (Nalluri e Karri, 2020; Gaines et al., 2021; Dai et al., 2022). Exemplos de herbicidas seletivos incluem atrazina e mesotriona. Estes dois herbicidas pertencem a diferentes classes químicas e são importantes no manejo de pragas em culturas como milho, soja e arroz (Javaroni et al., 1999; Johnson et al., 2002; Guo et al., 2020; Jhala et al., 2022; Leng et al., 2022).

Na agricultura, é comum utilizar misturas de herbicidas para otimizar a gestão agrícola e ampliar o espectro de ação contra plantas daninhas. A mistura dos herbicidas pode acontecer dentro do tanque de pulverização ou na superfície da planta, mas já existem no mercado misturas comerciais de dois ou mais herbicidas (Barbieri et al., 2022). Em 2019, a empresa Syngenta lançou o Calaris[®], uma mistura dos herbicidas seletivos atrazina e mesotriona usados para ampliar o espectro de controle de ervas daninhas (Araújo et al., 2023).

2.2 Calaris[®]: herbicida de mistura comercial

O Calaris[®] é um herbicida seletivo para cultura de milho, que atua de maneira sistêmica, sendo transportado através do sistema de circulação de nutrientes da planta, floema e xilema. É composto pela mistura na proporção 1:10 dos herbicidas mesotriona e atrazina,

respectivamente. De acordo com o fabricante, o Calaris® é usado em quantidades menores quando comparado à aplicação individual de seus componentes. O Calaris® atua no controle de amplo espectro de gramíneas e ervas daninhas de folhas largas como capim-colchão, capim-pé-de-galinha e caruru. Além disso, o fabricante relata que a mistura comercial pode atuar no manejo de plantas resistentes ao herbicida glifosato. O Calaris® tem densidade aproximada de 1,15 g mL⁻¹. A dose recomendada de Calaris® para aplicação varia entre 1,0 e 2,4 L ha⁻¹, ajustando-se conforme a densidade e o estágio de desenvolvimento das plantas daninhas. O valor de DL₅₀ (dose letal média) do Calaris® em ratos por via oral foi determinado em 2000 mg kg⁻¹. Isso coloca o produto na Categoria 4 da classificação toxicológica (baixa toxicidade). Entretanto o produto é classificado como Classe II, altamente perigoso ao meio ambiente, pois apresenta alta mobilidade no solo, alta persistência no meio ambiente e é altamente tóxico para organismos aquáticos (Syngenta, 2022).

O herbicida atrazina [2-cloro-4-etilamino-6-(isopropilamino)-s-triazina] (Fig. 1), presente na composição desta mistura, pertence ao grupo das triazinas e atua inibindo o crescimento de ervas daninhas alvo, ao impedir o transporte de elétrons no fotossistema II, reduzindo a taxa de fixação de carbono (Wang et al., 2006; He et al., 2019). Este herbicida é usado no manejo de ervas daninhas em culturas de milho, sorgo, trigo e cana-de-açúcar, sendo aplicada de forma pré-emergência e pós-emergência das pragas (Williams et al., 2010; Norsworthy et al., 2020). Ele é amplamente utilizado no mundo, principalmente nos Estados Unidos e no Brasil, porém apresenta restrições de uso na União Europeia (Bethsass e Colangelo, 2006; Leal et al., 2019). A legislação brasileira direcionada à qualidade e preservação de águas doces superficiais, determina que a concentração máxima de atrazina em águas superficiais é 0,002 mg L⁻¹ (Brasil, 2005; Brovini et al., 2021). De acordo a ANVISA, a ingestão diária tolerável da atrazina é 0,02 mg kg⁻¹ de peso corporal (ANVISA, 2022). Em cultivos de cana de açúcar e milho, a marca Syngenta, uma das que comercializa a atrazina, recomenda a aplicação

de 4 a 5 litros do produto por hectare, a depender do tipo de cultura e das condições específicas do solo e clima (Syngenta, 2023a). De acordo com a Syngenta, que comercializa a atrazina sob nome comercial Proof[®]. Este produto comercial possui o valor de DL_{50} do herbicida em ratos por via oral é maior que 4000 mg kg^{-1} , sendo classificado como Categoria 5, produto improvável de causar dano agudo. Quanto ao seu potencial de periculosidade ambiental, o Proof[®] é classificado como Classe II, sendo muito perigoso para o meio ambiente (Syngenta, 2024). A atrazina apresenta um tempo longo de presença no meio ambiente devido a sua estrutura química estável, o que dificulta sua degradação (Tussipkan e Manabayeva, 2022). Outra característica importante deste herbicida é que apresenta alta mobilidade em meio aquoso, embora possua baixa solubilidade em água (35 mg L^{-1} a 20°C) (Gengec, 2022). O produto possui densidade relativa entre 1,08 e 1,12 g/mL (Syngenta, 2024).

A molécula de atrazina é sintética e no ambiente apresenta meia-vida de 30 a 100 dias, a depender do tipo de solo, pH, umidade e temperatura. Estudos indicam que comunidades microbianas desempenham um papel importante na degradação da atrazina. Em estudos, bactérias como a *Pseudomonas* sp. e alguns fungo presentes no solo foram capazes de transformar a atrazina, transformando-a em subprodutos menos tóxicos, por mineralização e metabolização, respectivamente (Billet et al., 2019; Bravim et al., 2020). Em organismos experimentais como *zebra-fish* é relatado que a atrazina é absorvida no intestino e chega ao fígado através do sistema circulatório. Enzimas do citocromo CYP450, associadas ao processo de desintoxicação, metabolizam a atrazina, produzindo derivados como desetilatrizona e deisopropilatrizona (Zhang et al., 2022). Pesquisadores também evidenciam o papel da enzima glutathione S-transferase (GST) encontrada no fígado. Ela atua na conjugação da atrazina e seus metabolitos com a molécula de glutathione, tornando-os mais solúveis para o processo de excreção (Joo et al., 2010;).

Evidências científicas sugerem que a exposição à atrazina está associada a diversos tipos

de cânceres em humanos, como o de linfoma não Hodgkin e leucemia, e problemas de desenvolvimento em animais testados em laboratório, pois também atua com um desregulador endócrino (Rusiecki et al., 2004; Bethsass e Colangelo, 2006).

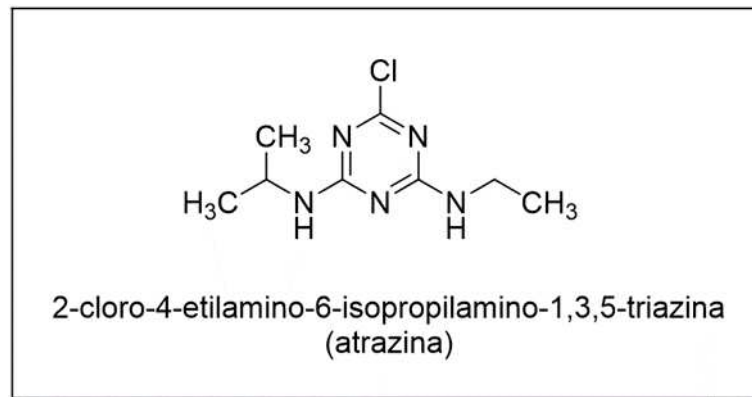


Figura 1: Molécula de atrazina

A mesotriona [2-(4-mesyl-2-nitrobenzoyl) cyclohexane-1,3-dione] (Fig. 2) é um herbicida seletivo do grupo químico das Tricetonas, usado em cultivo de milho e atua no controle de pré-emergência e pós-emergência de ervas daninhas de folha larga e algumas gramíneas (Wang et al., 2019a; Dai et al., 2022). Nas plantas daninhas, o composto interfere na atividade da enzima 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenase (HPPD) nos cloroplastos, inibindo a biossíntese de carotenoides, que são fundamentais no processo de fotossíntese, levando ao branqueamento das folhas e posterior morte da planta (O'Sullivan et al., 2002; Simarmata et al., 2023). A mesotriona é uma molécula sintética análoga ao composto natural leptospermone, descoberto durante estudos sobre compostos produzidos pela planta escova-de-garrafa (*Callistemon citrinus*) (NCBI, 2024). Os dois principais metabolitos da mesotriona são 2-(4-mesil-2-nitrobenzamido) acético e ácido 2-amino-4-metilsulfônico benzoico (Barchanska et al., 2012). A degradação da mesotriona no solo é fortemente influenciada pelo pH. Em solos ácidos, esse processo é mais lento, enquanto em solos neutros ou alcalinos, a degradação ocorre mais rapidamente. A meia-vida da mesotriona é estimada em 32 dias em solos com pH 5,0 e em 4,5 dias em solos com pH 7,1 (Pismarović et al., 2022).

Este herbicida é permitido para uso no Brasil, Estados Unidos e países da União Europeia (EUR-Lex, 2017). Entretanto, no Brasil não há legislação específica sobre as doses máximas de mesotriona nas lavouras. A marca Syngenta comercializa a mesotriona sob o nome Callisto[®], e recomenda o uso de doses de 0,25 a 0,30 L do produto por hectare de aplicação, com intervalo de 30 dias entre aplicações em plantações de cana de açúcar (Syngenta, 2023b). O valor de DL₅₀ do Callisto[®] em ratos por via oral é maior que 5000 mg kg⁻¹, não o classificando quanto à toxicologia. Quanto ao seu potencial de periculosidade ambiental, o Callisto[®] é classificado como Classe III, sendo perigoso para o meio ambiente (Syngenta, 2016). O produto possui uma densidade absoluta de 1,19 g/cm³ e é solúvel em água (160 mg L⁻¹ a 20 °C), o que facilita sua aplicação, entretanto favorece seu potencial de contaminação de águas subterrâneas e superficiais. Registros anteriores identificaram resíduos deste herbicida em ecossistemas aquáticos (Ni et al., 2014; Wang et al., 2018; Zhao et al., 2018; Syngenta, 2023b). De acordo com a ANVISA (2022), a ingestão diária aceitável da mesotriona é 0,005 mg kg⁻¹ de peso corporal.

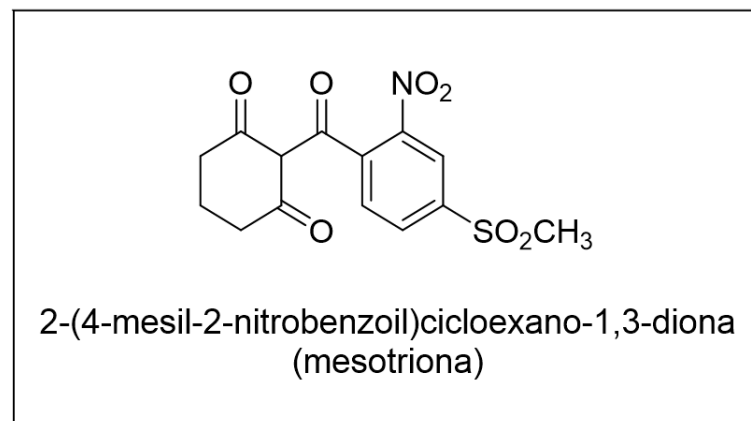


Figura 2: Molécula de mesotriona

2.3 Funções e estrutura do fígado com foco na neutralização de agentes tóxicos

O fígado desempenha funções vitais para o funcionamento do organismo, incluindo a detoxificação do organismo frente à exposição de agentes tóxicos. Ele é responsável pela metabolização de nutrientes e atua como intermediário entre os sistemas digestório e

circulatório. O fígado processa e armazena nutrientes como carboidratos, proteínas e gorduras absorvidos pelo intestino através da veia porta ou artéria hepática, para distribuí-los posteriormente para outros órgãos (Ross e Pawlina, 2016). Ele também atua como estoque interno do organismo, armazenando vitaminas como A, D, E, K e B12, minerais como ferro e cobre, além de glicose, ele libera esses nutrientes conforme as necessidades do corpo para manter os níveis homeostáticos adequados (Si-Tayeb et al., 2010). Por fim, o fígado sintetiza várias proteínas essenciais envolvidas em funções vitais como coagulação sanguínea, sistema imunológico e transporte de substâncias no sangue, a exemplos proteínas como albumina, fatores de coagulação sanguínea, imunoglobulinas e transportadores de lipídeos (Pandey, 2023).

O fígado realiza a detoxificação do organismo frente à exposição de agentes tóxicos, desempenhando papel essencial na filtragem e neutralização de substâncias tóxicas como álcool, medicamentos e produtos químicos, como os herbicidas (Almazroo et al., 2017). Durante esse processo, o fígado executa várias etapas e utiliza enzimas específicas para converter toxinas lipofílicas em compostos hidrofílicos, facilitando sua excreção (Benedetti et al., 2009). A desintoxicação hepática divide-se em três fases principais. Na fase I, enzimas como as do complexo citocromo P450 alteram a estrutura das toxinas pela adição de oxigênio ou remoção de hidrogênio, tornando-as mais hidrossolúveis e preparadas para a fase II (Kalra et al., 2023). A redução e a hidrólise também podem ocorrer, porém são menos comuns. Na fase II, os compostos vindos da fase I são conjugados com moléculas hidrofílicas, aumentando ainda mais sua solubilidade em água a fim de facilitar a excreção (Almazroo et al., 2017). Um exemplo é a conjugação com glutathiona, essencial para neutralizar radicais livres e toxinas, com a participação de enzimas GSTs. As células realizam a maior parte da conjugação de glutathiona no citosol, com uma quantidade menor ocorrendo nas mitocôndrias (Benedetti et al., 2009). Na fase III, os conjugados hidrossolúveis formados na fase II são transportados para fora das

células hepáticas e encaminhados para a vesícula biliar ou para os rins (Kalra et al., 2023). A excreção biliar elimina compostos conjugados pelas fezes, enquanto a excreção renal os elimina pela urina. É importante destacar que idade, sexo, interações medicamentosas, diabetes, gravidez, doenças hepáticas ou renais, inflamações e predisposições genéticas podem influenciar o metabolismo hepático, bem como a saúde do órgão. (Almazroo et al., 2017).

Considerando sua importância e papel fundamental na desintoxicação do organismo, o fígado está sujeito a distúrbios de funcionamento em decorrência de intoxicação por compostos químicos como herbicidas e metais pesados (Pari e Prasanth, 2018). Isso pode levar ao aumento de concentração sérica de enzimas hepáticas, desequilíbrio oxidativo/antioxidante no tecido e o aparecimento de patologias, como congestão, inflamação e degeneração (Destro et al., 2021). A congestão nos tecidos ocorre devido ao aumento de hemácias circundantes, resultando em edema e turgidez dos vasos sanguíneos. Isso favorece a formação de infiltrados inflamatórios devido ao acúmulo de células de defesa no tecido (Torbenon e Washington, 2020). Em exposições agudas e subagudas, o fígado pode apresentar insuficiência hepática associada à resposta inflamatória pela presença de infiltrados inflamatórios mononucleares (Arriero et al., 2001; Honma et al., 2021). A persistência de intoxicação no fígado pode levar a processos degenerativos, como a degeneração hidrópica, que ocorre quando a água se acumula nas células devido ao desequilíbrio eletrolítico (Abdelhalim e Jarrar, 2011).

A exposição a herbicidas, como atrazina e mesotriona, pode acarretar distúrbios hepáticos. A exposição à atrazina pode alterar a histologia do fígado, apresentando células hepáticas necróticas e veias centrais congestionadas (Odi et al., 2022). A atrazina também é associada a danos em hemácias de ratos e também em DNA hepático (Singh et al., 2008). Além disso, a exposição subcrônica ao herbicida pode gerar danos oxidativos ao fígado de ratos, apresentado pelo aumento da concentração de malondialdeído e alteração nas atividades das enzimas superóxido dismutase e catalase (Jestadi et al., 2014; Lin et al., 2016; Semren et al.,

2018). Ratos expostos a atrazina apresentaram lipidose hepática e inflamação linfocítica grave na veia porta, além de alterações na concentração de triglicerídeos, colesterol e glicemia no sangue, indicando impacto direto ao fígado e suas funções (Riera et al., 2022). A exposição à mesotriona não apresenta dados publicados em fígado de mamíferos, mas em peixes o herbicida induziu danos ao DNA e estresse oxidativo (Piancini et al., 2015; Wang et al., 2018).

O fígado é envolvido por tecido conjuntivo, que o divide em lóbulos constituídos por cordões de hepatócitos, as células predominantes deste órgão (Cullen e Stalker, 2016). Cada lóbulo hepático apresenta uma veia centrolobular, de onde partem capilares sinusoides que transpassam os cordões de hepatócitos e associados aos capilares estão as células de Kupffer, que são macrófagos do fígado. Em áreas na periferia dos lóbulos existem espaços porta, que são regiões que possuem nervos, ductos biliares, vasos linfáticos e sanguíneos (Junqueira e Carneiro, 2017).

Para avaliar a saúde do fígado, é possível empregar diversas abordagens, como a avaliação dos biomarcadores de dano hepático, perfil inflamatório, atividade de enzimas antioxidantes, concentração de marcadores de estresse oxidativo, atividade de ATPases, proporção de microelementos, acúmulo de glicogênio e análises histológicas (Souza et al., 2018; Carvalho et al., 2022). A importância de cada uma dessas análises será discutida a seguir.

2.4 Biomarcadores de dano hepático

Existem enzimas que são importantes marcadores de dano hepático e utilizadas em testes para diagnosticar doenças e avaliar o impacto de compostos químicos sobre o fígado (Oh et al., 2017). Lesões que comprometem a integridade dos hepatócitos resultam na alteração da permeabilidade de sua membrana e provocam o extravasamento de enzimas localizadas tanto no citoplasma quanto em organelas citoplasmáticas. As transaminases destacam-se como os principais agentes extravasados em resposta à lesão hepática (Ahmed et al., 2018; Liu et al.,

2019; Long et al., 2019; Yamaguchi et al., 2019). Além delas, existem as enzimas de indução, que são estimuladas nas mesmas células onde são sintetizadas, na presença de toxinas, medicamentos ou hormônios, resultando em um aumento de sua concentração no sangue.

A enzima citoplasmática alanina aminotransferase (ALT) catalisa a conversão de alanina em piruvato, presente na via da gliconeogênese e no ciclo de Krebs (Yamazaki et al., 2019). Embora sua atividade seja predominantemente citoplasmática dos hepatócitos, não é especificamente hepática, uma vez que uma proporção significativa, de 5% a 25%, é encontrada nos músculos esquelético e cardíaco (Supramaniam et al., 2019). Desse modo, o aumento da atividade de ALT está mais correlacionado com perfis bioquímicos do fígado, sendo associado a várias hepatopatias agudas, incluindo hipóxia, inflamação, neoplasia, uso de medicamentos como corticosteroides e anticonvulsivantes e a fase de recuperação hepática, caracterizada pela regeneração dos hepatócitos (Johnson e Sherding, 2006; Wang et al., 2017). Já a enzima aspartato aminotransferase (AST) converte aspartato em oxaloacetato e pode ser encontrada nas mitocôndrias dos hepatócitos e, em menores quantidades, no seu citoplasma. AST ainda é detectada em eritrócitos, células musculares, rins e pâncreas (Yan et al., 2020; Jin et al., 2023). O aumento da AST é observado em doenças hepáticas agudas e está associado a lesões hepáticas mais graves, como necrose e lipidose ativa, devido à sua isoenzima mitocondrial (Johnson e Sherding, 2006; Sun et al., 2019). A fosfatase alcalina (ALP) é uma metaloenzima de zinco e uma das principais enzimas de indução, presente em várias membranas celulares, em vários órgãos como ossos, rins, intestinos, pâncreas, placenta e fígado, estando altamente concentrada em canalículos biliares (Iluz-Freundlich et al., 2020). A ALP atua na hidrólise de monoésteres de fosfato e altas concentrações de ALP no soro podem sugerir doenças hepatobiliar, óssea ou hiperfosfatemia transitória (Moss, 1982; Rosalki e Foo, 1984; Fukatsu, 2001; Amin et al., 2020). Um estudo em ratos expostos ao herbicida paraquat revelou aumento significativo das enzimas hepáticas séricas ALP, AST e ALT, indicando que houve lesão

hepática nestes animais (Ijaz et al., 2024). Desta forma, devido a exposição a compostos químicos como os herbicidas, a verificação destes biomarcadores de danos hepáticos se faz necessária para identificação de possível comprometimento no metabolismo e função deste órgão.

2.5 Inflamação

A inflamação ocorre como resposta a estímulos prejudiciais, como a presença de patógenos, lesão celular, substâncias tóxicas ou radiação (Ferrero-Miliani et al., 2007; Jabbour et al., 2009; Medzhitov, 2010). É um mecanismo crucial de defesa do organismo, porém em situações específicas se torna prejudicial à saúde, como em casos de anafilaxia ou quando se torna crônica (Nathan e Ding, 2010). Durante o processo inflamatório, ocorrem eventos importantes como mudanças na permeabilidade dos vasos sanguíneos, recrutamento de leucócitos e liberação de mediadores de inflamação (Chertov et al., 2000; Ferrero-Miliani et al., 2007).

De acordo com Muire et al. (2020), o processo inflamatório apresenta três fases na resposta corporal à lesão, fase inicial, regeneração e remodelação e reparo. A fase inicial ocorre de 0 a 7 dias após a lesão, caracterizando-se pela liberação inicial de mediadores inflamatórios e recrutamento de células imunes ao local afetado (Hellenbrand, et al., 2021). Os primeiros leucócitos a serem atraídos para a lesão são os neutrófilos, seguidos por monócitos, linfócitos e mastócitos (Stramer et al., 2007; Van et al., 2014; Robb et al., 2016). Em caso de inflamações agudas, pode ocorrer o acúmulo dessas células no tecido afetado formando um infiltrado inflamatório (Ene et al., 2022). Os glóbulos brancos liberam mediadores inflamatórios como as citocinas quando são ativados. Citocinas são proteínas que atuam na regulação da resposta imunológica como mensageiros químicos, coordenando a comunicação entre diferentes células imunes (Tab. 1) (Zhang et al., 2007). As citocinas são classificadas em pró-inflamatórias e anti-

inflamatórias. As pró-inflamatórias amplificam a resposta inflamatória, estimulando a produção de outras citocinas pró-inflamatórias e ativando células imunes, a exemplo interleucina (IL)-2, IL-6, IL-17 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Moghbeli et al., 2021). Já as anti-inflamatórias exercem efeitos inibitórios sobre a resposta inflamatória, suprimindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e reduzindo a ativação de células imunes, como IL-10 e IL-4 (Huang et al., 1998). Durante a fase inicial, o local da lesão é enriquecido com citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, que regulam funções celulares por meio da ativação e indução de fatores e proteínas importantes para a regeneração (Pineau e Lacroix, 2007).

Tabela 1. Funções e principais fontes de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias

Citocinas	Funções	Principais fontes
IL-2	Pró-inflamatórias; fator de crescimento e diferenciação de células T e NK; ativação macrófagos e células T, B e NK	Células Th1 ativadas e células NK
IL-4	Anti-inflamatórias; fator de crescimento e diferenciação de células B; ativação mastócitos; promoção da síntese de IgE e IgG; inibição de células Th1	Células Th2
IL-6	Pró-inflamatórias; maturação de neutrófilos e macrófagos; diferenciação de células T, B e NK; produção de IL-2	Células T, macrófagos, células endoteliais
IL-10	Anti-inflamatórias; inibe células Th1 e macrófagos	Células T reguladoras
IL-17	Pró-inflamatórias; estimula a secreção de citocinas anti-inflamatórias	Células Th17
TNF - α	Pró-inflamatórias; estimula a produção de outras citocinas pró-inflamatórias	Macrófagos e células NK
IFN- γ	Ativação de macrófagos e células NK, inibe células Th2, estimula células Th1	Células Th1 e células NK ativadas

IFN-interferon; Ig, - imunoglobulina; IL – interleucina; NK – natural killer; Th1 – célula T helper1; Th2 – célula T helper2; Th17 – célula T helper17; TNF – fator de necrose tumoral.

(Coico e Sunshine, 2009; Han et al., 2010; Woodward et al., 2010; Brown e Hural, 2017; Negishi et al., 2018; Kuo et al., 2020; Moghbeli et al., 2021; Grebenciucova e VanHaerents, 2023).

Após a fase inflamatória, a fase de regeneração começa entre 4 e 14 dias após a lesão, sendo coordenada para evitar a evolução da inflamação aguda para um quadro crônico (Muire et al, 2020). A supressão da resposta inflamatória envolve a produção controlada dos mediadores, que agem para que os leucócitos não sejam mais recrutados para o local da lesão, restaurando a homeostase. A exemplo, nesta fase a concentração da IL-6 começa a baixar em direção ao basal e é observado o pico na quantidade de infiltrado inflamatório linfocítico (Hellenbrand, et al 2021). A fase de remodelação e reparo se estende depois dos 14 dias, envolvendo a reestruturação e fortalecimento do tecido lesado. Esse processo inclui etapas como redução de apoptose, regulação negativa de quimiocinas e citocinas e cicatrização (Serhan e Seville, 2005; Reville et al., 2006).

O processo inflamatório no fígado envolve principalmente a ativação das células de Kupffer e o recrutamento de células inflamatórias. Tal fato resulta na produção de citocinas que podem gerar inflamação persistente e danos aos hepatócitos a longo prazo (Szabo et al., 2007).

A exposição a herbicidas pode gerar respostas inflamatórias nas superfícies corporais externa e interna, como tegumentar e gastrointestinal respectivamente, que atuam como a primeira linha de defesa do corpo. O organismo libera substâncias como alarminas, que sinalizam uma resposta imune quando entram em contato com o tóxico. Macrófagos e linfócitos ativados por TNF- α , por exemplo, começam a agir na reparação dos danos e a amplificar a resposta do organismo (Lopes-Ferreira et al., 2023). Um estudo realizado com ratas prenhes expostas ao herbicida glifosato mostrou que a prole apresentou concentrações elevadas de TNF- α e IL-6 no fígado, caracterizando um processo de inflamação (Rieg et al., 2022). Outro estudo expôs ratos por 14 dias ao paraquat e analisou o perfil inflamatório hepático, mostrando efeito do herbicida no aumento de citocinas pró-inflamatórias e danos hepáticos (Rafiee et al., 2023).

2.6 Estresse oxidativo

A produção contínua de espécies reativas desempenha um papel crucial em vários processos biológicos, pois estas agem como mediadores da transferência de elétrons em reações bioquímicas (Minciullo et al., 2014). As mitocôndrias são suas principais fontes em sistemas biológicos, através da cadeia transportadora de elétrons (Venditti e Meo, 2020). Na redução de O_2 , espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio são geradas, levando à formação de radicais superóxido (O_2^-) e hidroxila (OH^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (ON; Fujita et al., 2021). Apesar de EROs serem subprodutos do metabolismo celular normal e desempenharem papéis essenciais em vários processos fisiológicos, quando produzidas em excesso, podem causar danos oxidativos a estruturas celulares como lipídios, membranas, proteínas e DNA (Srinivas et al., 2019).

Os antioxidantes intracelulares enzimáticos e não enzimáticos protegem as células de danos provocados por espécies reativas (Sies et al., 2017). Enzimas que atuam na linha de frente no combate aos EROs são superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST). A SOD facilita a reação em que O_2^- ganha um elétron extra e dois íons de hidrogênio, formando peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 é conhecido por ser menos reativo que o O_2^- porém em grandes concentrações pode comprometer estruturas celulares (Narváez-Cuenca et al., 2011). Com isso, a enzima CAT atua para decompor o H_2O_2 em água e oxigênio (Xue et al., 2022). A enzima GST faz a conjugação da molécula de glutathione com radicais livres e toxinas, facilitando a sua excreção pelo organismo (Morel et al., 2009). A capacidade de redução férrica do plasma (FRAP) é um marcador de atividade antioxidante, utilizado para avaliar o total de antioxidantes não enzimáticos nas células, indicando a capacidade deles em reduzir o ferro férrico (Fe^{3+}) (Wolfe e Liu, 2007). A concentração de ON é outro parâmetro usado na identificação de estresse oxidativo. Em condições inflamatórias, a isoforma induzível do óxido nítrico sintase (iNOS) apresenta produção de ON em grandes

quantidades, se associando a um estado de citotoxicidade celular (Arriero et al., 2001).

Danos provocados pelo desequilíbrio da produção e decomposição de EROs e radicais são medidos por marcadores do estresse celular. O malondialdeído (MDA) é um marcador de estresse oxidativo formado através da peroxidação lipídica induzida pela ação de radicais livre em desequilíbrio no organismo. O acúmulo de MDA no tecido pode indicar dano estrutural de membrana (Barbosa et al., 2010; Rahal et al., 2014). Proteínas carboniladas (PC) são produzidas a partir da oxidação de resíduos de aminoácidos. Os compostos carbonilados formados neste processo podem comprometer a transcrição do DNA e a atividade mitocondrial, o que prejudica o dobramento e o funcionamento proteico (Hauck et al., 2018). Estudos que avaliaram a exposição a herbicidas como atrazina em ratos apresentaram resultados que relacionam os químicos a danos oxidativos no fígado, dando destaque à presença da concentração elevada do marcador MDA e redução da atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD (Abarikwu, 2014; Zhang et al., 2017).

2.7 *ATPases Na⁺/K⁺, Mg²⁺ e Ca²⁺*

ATPases são enzimas que utilizam adenosina trifosfato (ATP) na produção de energia para realização das diversas funções celulares, como ação das proteínas motoras miosinas e proteínas de membrana em bombas de sódio/potássio (Na⁺/K⁺), magnésio (Mg²⁺) e cálcio (Ca²⁺) (Velli, e Devaki, 2020; Sati, 2023). A Na⁺/K⁺ ATPase funciona com energia proveniente da hidrólise de ATP, que induz mudanças conformacionais na proteína, permitindo a troca de íons Na⁺/K⁺, transportando íons Na⁺ para fora da célula e íons K⁺ para dentro, contra o gradiente de concentração (Alberts et al., 2017; Leone et al., 2020; Kinoshita et al., 2021). A ATPase se liga firmemente e especificamente aos íons corretos, evitando o desperdício de ATP (Alberts et al., 2017). A inibição da Na⁺/K⁺ ATPase pode causar edema, morte neuronal e problemas cognitivos (Factor et al., 1998; Khan et al., 2003; Ding et al., 2019). Além disso, essa enzima é

um importante regulador da homeostase iônica de hepatócitos. Alterações em sua estrutura e funcionamento podem levar a distúrbios hepáticos (Hodeify et al, 2021).

A Mg^{2+} ATPase atua na regulação das concentrações intracelulares do íon Mg^{2+} , essencial cofator de enzimas e associado ao metabolismo energético e síntese proteica (Canli et al. 2016; Recabarren et al., 2020; Shao, 2023). A Ca^{2+} ATPase, por sua vez, transporta íons Ca^{2+} através da membrana plasmática ou do retículo endoplasmático, participando de processos regulatórios vitais, como fertilização e apoptose celular (Nagai et al., 1989). Essas bombas mantêm uma baixa concentração de Ca^{2+} no citosol em relação ao meio extracelular, crucial para diversos processos celulares, como contração muscular e comunicação neuronal (Alberts et al., 2017).

2.8 Análise de elementos químicos

Todas as estruturas de organismos vivos e elementos não vivos do ambiente são constituídas por elementos químicos. A crosta terrestre é composta principalmente de oxigênio, silício e alumínio, enquanto o corpo humano é composto predominantemente por hidrogênio, oxigênio e carbono (Alberts et al., 2017). Além desses elementos básicos, os humanos e outros seres vivos apresentam em sua composição química básica elementos essenciais, como o nitrogênio, fósforo, enxofre, cálcio, potássio, cloro, sódio, magnésio e zinco. Esses elementos são componentes de proteínas e ácidos nucleicos, atuando como cofatores em processos bioquímicos, mantendo o gradiente eletroquímico necessário para a homeostase celular (Haftek et al., 2022). Por meio de técnicas como a microscopia eletrônica de varredura e Espectrometria de Energia Dispersiva, é possível quantificar elementos químicos em amostras biológicas. Nesta técnica, um feixe de elétrons é posto sobre uma amostra e interage com sua superfície, permitindo a análise da sua composição química. Na avaliação do material, o lugar onde os picos registrados estão permite a identificação de um elemento químico e o seu tamanho indica

a concentração do elemento na amostra (Galván Josa et al., 2013).

2.9 Análise histológica do fígado

Análises microscópicas envolvem o exame de materiais ou amostras em nível microscópico para coletar informações detalhadas sobre sua estrutura e propriedades. Um dos seus tipos é a análise histológica que pode ser feita a partir de diferentes técnicas de coloração e microscopia e é usada para avaliar a saúde e possíveis danos em um tecido e na sua função (Junqueira e Carneiro, 2017; Kusumoto et al., 2022;). Colorações convencionais são usadas para avaliar o parênquima de um órgão quanto a afinidade ácido-básica dos constituintes celulares, patologias e componentes. A coloração por hematoxilina e eosina (HE) usa dois corantes com propriedades químicas distintas. A hematoxilina, um corante básico roxo, se liga a componentes ácidos das células, como ácidos nucleicos. Enquanto isso, a eosina, um corante ácido rosa, se liga a componentes básicos no tecido, como proteínas citoplasmáticas e matriz extracelular (Caputo et al., 2010). Nessa coloração, é possível observar características como tamanho e forma do núcleo, a homogeneidade do citoplasma e a matriz extracelular (Fischer et al., 2008).

Colorações histoquímicas são usadas para estudos histológicos complexos, nos quais as características seletivas de coloração auxiliam na visualização de componentes teciduais e celulares específicos, que vão além das colorações de rotina (Rodrigues et al., 2022). A coloração histoquímica de ácido periódico de Schiff (PAS) é amplamente utilizada em estudos histológicos para identificar carboidratos como o glicogênio, um polímero de glicose que é a reserva energética mais importante dos mamíferos, encontrada no músculo esquelético e no fígado (Roach et al., 2001). A diabetes é uma doença que pode estar associada a perturbações no metabolismo de glicogênio (Cline et al., 1994). Na técnica de PAS, a glicose é oxidada e forma aldeídos que são corados em magenta (Nelson et al., 2017).

3. Materiais e métodos

3.1 Animais

Foram adquiridos 30 camundongos machos da linhagem Swiss, com 70 dias de idade, vindos do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno, com controle de fotoperíodo (12 horas de luz) e temperatura mantida a 22°C, garantindo-lhes acesso irrestrito à alimentação e água. Todos os procedimentos experimentais foram devidamente documentados sob o protocolo de número 33/2023 e receberam aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFV em 03/08/2023.

3.2 Design experimental

Após uma semana de adaptação, os camundongos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais (n = 10 animais por grupo). Animais do grupo controle receberam diariamente 0,2 mL de água filtrada por gavagem, enquanto animais dos dois grupos Calaris® receberam o herbicida diluído em água nas concentrações de 0,2 e 2,0mg kg⁻¹, respectivamente, por gavagem e em volume de 0,2 mL. As concentrações testadas são 10000 e 1000 vezes inferiores ao LD₅₀ do Calaris®, concentração que leva à morte de 50% dos animais testados. Os animais foram expostos diariamente ao herbicida até atingirem 7 e 14 dias de exposição, quando foram eutanasiados 5 animais por grupo 24h após o fim de cada período de tempo subagudo de exposição. Exposição subaguda corresponde ao período de tempo que varia de 1 a 30 dias de exposição (Machado-Neves, 2022).

3.3 Eutanásia, coleta do fígado e análise biométrica

Após 7 e 14 dias de tratamento, os animais foram submetidos à pesagem e posteriormente foram sedados e anestesiados, como xilazina (30 mg kg⁻¹ intraperitoneal) e

cetamina (300 mg kg⁻¹ intraperitoneal), respectivamente. Após a anestesia foram eutanasiados pela coleta do sangue por punção cardíaca, que foi centrifugado a 2000 xg a 4 °C por 10 minutos para obtenção do soro destinado a análises bioquímicas. O fígado foi então dissecado e pesado, metade do órgão foi congelado em nitrogênio líquido e armazenada a -80 °C enquanto a outra metade foi destinada a análises histológicas e de microelementos. Amostras congeladas de fígado (100 mg; n = 5/grupo) foram homogeneizadas em 1 mL de Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4) e submetidas a centrifugação a 15.000 xg por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi encaminhado para análises de biomarcadores de dano hepático, de citocinas, de marcadores de estresse oxidativos e de enzimas antioxidantes.

3.4 Quantificação de biomarcadores de danos hepáticos

O sobrenadante de amostras de fígado e o soro foram utilizados para avaliar as concentrações hepáticas e séricas de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) por meio de kits bioquímicos (Laboratórios Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil), seguindo as instruções do fabricante.

3.5 Ensaio de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias no fígado

O sobrenadante de fígado foi utilizado para medir a concentração citocinas pró inflamatórias IL-2, IL-6, IL-17A e TNF e anti-inflamatórias IL-4, IL-10, IL-17A e IFN- γ por meio de kit bioquímico (BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Mouse Inflammation Kit), seguindo as instruções do fabricante. A atividade das citocinas foi expressa em picograma por mililitro.

3.6 Análise de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo

O sobrenadante de fígado foi usado para avaliar a atividade de enzimas antioxidantes

SOD (Dieterich et al., 2000), CAT (Aebi, 1984) e GST (Habig et al., 1974). Os resultados foram normalizados em relação às concentrações de proteína total, quantificada pelo método de Bradford (1976). A atividade dessas enzimas foi expressa como unidade (U) por miligrama de proteína. Adicionalmente, a partir do sobrenadante foi feita a quantificação de MDA e de nitrito, que ofereceu dados indiretos sobre as concentrações de ON (Tsikas, 2007). O pellet resultante foi empregado para determinar a PC, utilizando o leitor de microplacas ELISA. A FRAP foi medida pela redução do complexo férrico-tripiridiltriazina (Fe^{3+} -TPTZ) a tripiridiltriazina ferrosa (Fe^{2+} -TPTZ), fornecendo insights sobre a resposta antioxidante das amostras (Benzie e Strain, 1996). A quantificação de ON foi expressa em micromol (μM), de MDA e PC em nanomol por mililitro (nM/mL) e de FRAP em micromol por Fe^{+2} ($\mu\text{M}/\text{Fe}^{+2}$).

3.7 Atividades de ATPases Ca^{2+} , Na^+/K^+ e Mg^{2+}

Fragmentos de fígado (100 mg) foram homogeneizados em Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4) e centrifugados a 1500 xg a 5 °C por 10 minutos, a fim de obter o sobrenadante a ser usado na determinação da atividade de ATPase Ca^{2+} (Hjertén e Pan, 1983), Na^+/K^+ (Bonting et al., 1962) e Mg^{2+} (Ohnishi et al., 1982). Foi usada solução de ATP (0,1 M) como substrato para a produção de fosfato livre pela atividade das ATPases. Para interromper a reação foi adicionado à solução TCA 10% e o material foi centrifugado novamente. O teor de fosfato foi medido usando kit bioquímico (Laboratórios Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil) segundo instruções do fabricante. A partir do método de Bradford foi medido a concentração de proteínas totais (Bradford, 1976). A atividade de ATPase foi expressa em micrograma de fósforo/minuto/miligrama de proteína (Pi/min/mg/proteína).

3.8 Análise de proporção de elementos químicos

A avaliação das variações na proporção de elementos foi conduzida por meio da

espectroscopia de raio-X de dispersão de energia (EDS), utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Leo 1430VP, Carl Zeiss, Jena, Thuringia, Alemanha) equipado com um sistema de detector de raio X acoplado (Tracor TN5502, Middleton, WI, EUA). Fragmentos fixados dos órgãos foram desidratados em etanol, passaram por um processo de secagem em ponto crítico e foram revestidos com uma película de carbono. A proporção dos elementos Na, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Cu, Fe, Cl e S foi medida e analisada durante o procedimento. Os resultados foram expressos em percentual (%).

3.9 Processamento histológico

Fragmentos de fígado foram submersos em solução fixadora de formalina a 10% por 48 horas. Após a fixação, os fragmentos foram submetidos a desidratação em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e absoluto) e subsequentemente incluído em 2-hidroxietil metacrilato (Historesin[®], Leica Microsystems, Nussloch, Alemanha). Seções semi-seriadas com espessura de 3 μ m foram obtidas em micrótomo rotativo (RM 2255, Leica, Nussloch, Alemanha). Posteriormente, as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) para análises histopatológicas. Seções adicionais do fígado foram submetidas à coloração pelo método de ácido periódico de Schiff (PAS) com o objetivo de avaliar a presença de glicogênio nos tecidos.

3.10 Análises histológicas

Lâmina de fígado (n = 5/grupo) coradas com HE foram submetidos a análise através da microscopia de luz. Foram observadas eventuais alterações na organização do parênquima hepático. As lesões identificadas foram classificadas quanto a sua distribuição, como i) Focal: com a presença de 1 a 3 pontos de lesão no mesmo corte histológico; ii) Multifocal: focos de lesão em mais de 3 pontos no mesmo corte histológico; iii) Difusa: presença da lesão em todo

o corte histológico (Vasconcelos, 2000; Estrela-Lima et al., 2018).

Uma câmera digital acoplada ao microscópio óptico foi utilizada para capturar dez imagens por animal do material corado com PAS, utilizando objetiva com aumento de 20X. Em seguida, as imagens foram analisadas no software Image ProPlus (Media Cybernetics, Inc). Os pixels correspondentes à reação positiva de PAS foram identificados com base no histograma de cores do software. Resultados oriundos da reação do glicogênio com o PAS foram expressos em porcentagem de pixels na imagem.

3.11 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, para verificação da distribuição normal dos dados. Em seguida, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) unidirecional e as médias foram comparadas pelo teste post hoc de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os gráficos foram gerados utilizando o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Os dados foram expressos com média \pm desvio padrão (DP). Os valores de P foram listados na Tabela Suplementar 1.

4. Resultados

4.1 Parâmetros biométricos e bioquímicos

O peso corporal e do fígado não apresentou diferenças entre os animais dos grupos controle e expostos ao herbicida em ambos os tempos de exposição ($P > 0,05$; Tab. 2).

Camundongos expostos a 2 mg kg^{-1} do herbicida por 7 dias apresentaram maior concentração de AST sérica em relação a animais controle ($P < 0,05$), sem alterar valores encontrados no fígado ($P > 0,05$; Tab. 2). Não foram encontradas diferenças nas concentrações de ALT sérica e hepática em animais expostos ao Calaris[®] por 7 dias ($P > 0,05$; Tab. 2).

Os valores de ALT sérica foram maiores em camundongos expostos a 2 mg kg^{-1} do

herbicida por 14 dias que em animais controle, enquanto a ALT hepática foi menor. ($P < 0,05$; Tab. 2). Não foram encontradas diferenças nas concentrações de AST sérica e hepática dos animais expostos ao Calaris[®] por 14 dias ($P > 0,05$; Tab. 2).

Não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais para as concentrações de ALP sérica e hepática ($P > 0,05$; Tab. 2).

Tabela 2. Parâmetros biométricos e bioquímicos de camundongos Swiss expostos a diferentes concentrações do herbicida Calaris® por gavagem durante 7 e 14 dias.

Parâmetros	7 dias			14 dias		
	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹
Peso corporal (g)	38,1 ± 2,2 ^a	36,7 ± 0,8 ^a	40,2 ± 2,4 ^a	43,8 ± 2,0 ^a	40,9 ± 1,7 ^a	42,6 ± 2,2 ^a
Peso fígado (g)	1,8 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,2 ^a	1,8 ± 0,1 ^a	2,0 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,3 ^a
ALT (U/L) soro	30,6 ± 5,5 ^a	28,8 ± 6,0 ^a	32,1 ± 5,1 ^a	18,8 ± 7,9 ^a	20,3 ± 2,1 ^a	30,0 ± 6,0 ^b
AST (U/L) soro	28,9 ± 4,3 ^a	32,7 ± 3,4 ^a	57,8 ± 9,3 ^b	30,9 ± 5,4 ^a	45,8 ± 12,8 ^a	48,0 ± 14,7 ^a
ALP (U/L) soro	352,5 ± 48,5 ^a	323,6 ± 31,4 ^a	298,0 ± 37,6 ^a	273,8 ± 55,2 ^a	272,5 ± 31,9 ^a	358,8 ± 66,9 ^a
ALT (U/L) órgão	31,5 ± 9,7 ^a	34,7 ± 16,9 ^a	57,1 ± 14,2 ^a	44,4 ± 4,3 ^a	45,9 ± 7,3 ^a	54,8 ± 4,7 ^a
AST (U/L) órgão	44,0 ± 13,1 ^a	49,5 ± 18,1 ^a	53,9 ± 12,2 ^a	32,9 ± 4,1 ^a	31,5 ± 6,0 ^a	39,8 ± 8,5 ^a
ALP (U/L) órgão	139,6 ± 34,2 ^a	143,0 ± 53,5 ^a	166,9 ± 49,0 ^a	166,4 ± 15,8 ^a	165,6 ± 44,6 ^a	168,1 ± 17,0 ^a

Média ± DP. ALT – alanina aminotransferase; AST – aspartato aminotransferase; ALP – fosfatase alcalina. ^{a,b} letras minúsculas indicam diferença significativa entre o grupo controle e os grupos expostos ao Calaris® por 7 e 14 dias pelo teste de Tukey (P < 0,05). (n=5 animais/grupo).

4.2 Análise do perfil de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias no fígado

As concentrações das citocinas IFN, IL-4, IL-10, IL-17A e TNF no fígado não apresentaram diferenças entre os camundongos dos grupos controle e expostos ao Calaris[®] por 7 e 14 dias ($P > 0,05$; Tab. 3). A concentração hepática da citocina IL-2 aumentou em animais expostos a 2 mg kg^{-1} de Calaris[®] por 14 dias quando comparados a animais controle ($P < 0,05$; Tab. 3). A concentração hepática da citocina IL-6 aumentou em animais dos grupos expostos a 0,2 e 2 mg kg^{-1} de Calaris[®] por 14 dias quando comparados a animais dos grupos controle ($P < 0,05$; Tab. 3).

Tabela 3. Concentração de citocinas no fígado de camundongos Swiss adultos expostos a diferentes concentrações do herbicida Calaris[®], por gavagem, durante 7 e 14 dias.

Citocinas (pg mL ⁻¹)	7 dias			14 dias		
	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹
IFN	0,0± 0,0 ^a	0,00 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	1,1 ± 1,6 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	5,1 ± 4,1 ^a
IL-2	2,4 ± 0,1 ^a	2,22 ± 0,5 ^a	2,7 ± 0,6 ^a	2,8 ± 0,3 ^a	2,8 ± 1,1 ^a	5,1 ± 0,1 ^b
IL-4	11,3 ± 0,3 ^a	11,00 ± 0,5 ^a	11,9 ± 0,5 ^a	10,4 ± 0,7 ^a	12,7 ± 1,4 ^a	11,7 ± 0,2 ^a
IL-6	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	2,2 ± 3,2 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	6,8 ± 2,6 ^b	3,1 ± 0,4 ^b
IL-10	4,1 ± 5,3 ^a	16,4 ± 23,3 ^a	25,3 ± 35,7 ^a	70,0 ± 25,3 ^a	56,5 ± 45,4 ^a	28,9 ± 40,8 ^a
IL-17A	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
TNF	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a

Média ± DP. IFN – interferon; IL – interleucina; TNF – fator de necrose tumoral. ^{a,b} letras minúsculas indicam diferença significativa entre o grupo controle e os grupos expostos ao Calaris[®] por 7 e 14 dias pelo teste de Tukey (P < 0,05); (n=5 animais/grupo).

4.3 Análise de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo

Não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais para todas as variáveis testadas ($P > 0,05$; Fig. 3).

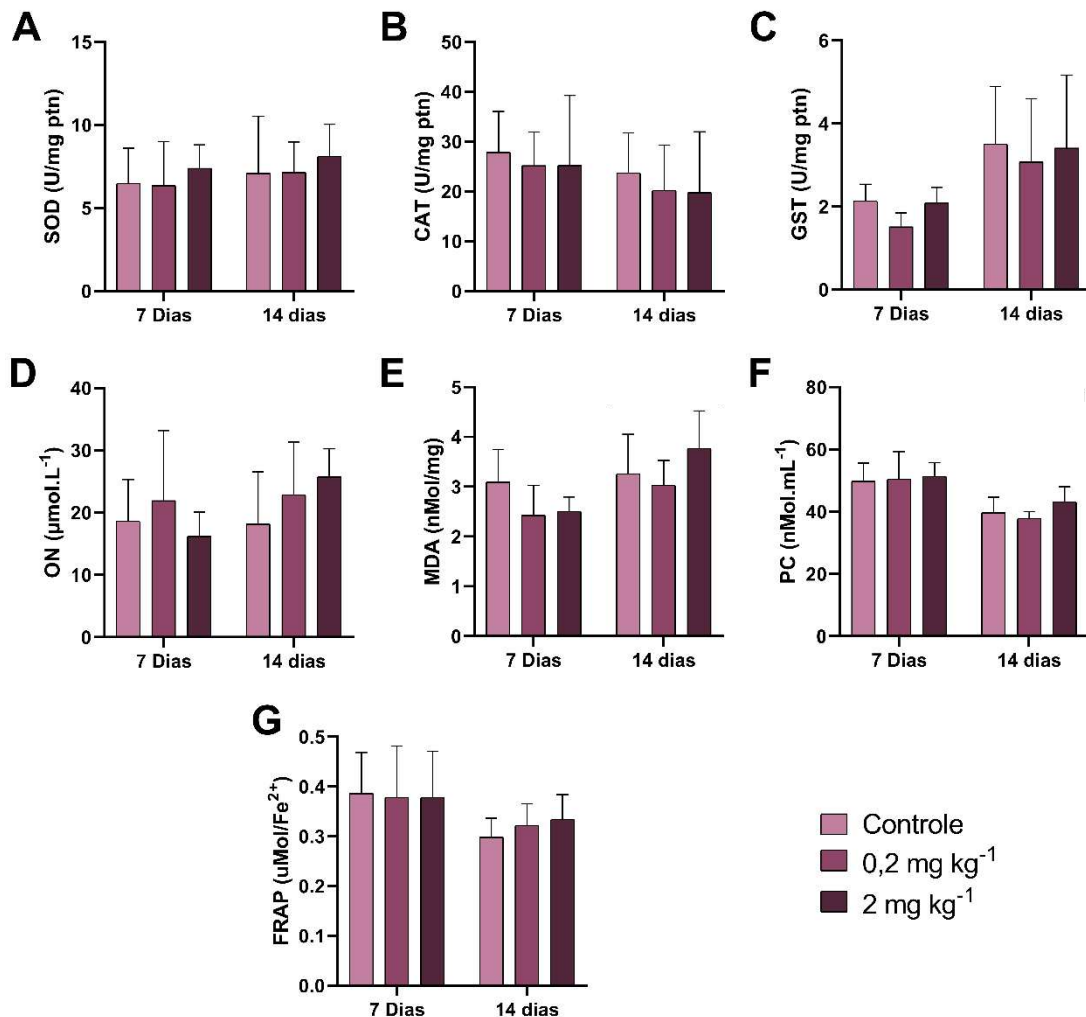


Figura 3: Efeitos da exposição a diferentes concentrações do herbicida Calaris[®], por gavagem, por 7 e 14 dias na atividade de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo no fígado de camundongos Swiss adultos. SOD – superóxido dismutase, CAT - catalase, GST – glutationa S-transferase, FRAP – poder antioxidante/redutor férrico, NO – óxido nítrico, MDA – malondialdeído e PC – proteína carbonilada. Média ± DP. Não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais pelo teste de Tukey ($P > 0,05$; n=5 animais/grupo).

4.4 Atividades de ATPases Ca^{2+} , Na^+/K^+ e Mg^{2+}

A atividade de Ca^{2+} e Mg^{2+} ATPases no fígado não diferiu entre os grupos experimentais e os tempos de exposição ($P > 0,05$; Tab. 4). A atividade de Na^+/K^+ ATPase, por sua vez, diminuiu em camundongos expostos a 0,2 e 2,0 mg kg⁻¹ de Calaris® quando comparados a animais do grupo controle por 7 e 14 dias ($P > 0,05$; Tab. 4).

4.5 Análise de proporção de elementos químicos

Não foram observadas diferenças entre a proporção dos elementos químicos mensurados no fígado de camundongos expostos ao herbicida Calaris® ($P > 0,05$; Tab. 5).

Tabela 4. Atividade enzimática Ca^{2+} , Na^+/K^+ , Mg^{2+} ATPase ($\text{Pi}/\text{min}/\text{mg}/\text{proteína} \times 10^{-4}$) no fígado de camundongos Swiss adultos expostos a diferentes concentrações do herbicida Calaris[®], por gavagem, durante 7 e 14 dias.

Parâmetros	7 dias			14 dias		
	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹
Ca^{2+} ATPase	6,1 ± 2,8 ^a	6,4 ± 2,2 ^a	6,8 ± 2,2 ^a	5,9 ± 0,0 ^a	6,3 ± 0,3 ^a	5,9 ± 0,1 ^a
Na^+/K^+ ATPase	6,5 ± 2,1 ^a	2,2 ± 1,0^b	2,1 ± 0,9^b	6,2 ± 1,9 ^a	2,5 ± 1,2^b	2,0 ± 1,0^b
Mg^{2+} ATPase	4,2 ± 1,1 ^a	2,5 ± 1,4 ^a	2,8 ± 1,0 ^a	4,5 ± 1,4 ^a	2,2 ± 1,4 ^a	2,7 ± 1,1 ^a

Média ± DP. ^{a,b} letras minúsculas indicam diferença significativa entre o grupo controle e os grupos expostos ao Calaris[®] por 7 e 14 dias pelo teste de Tukey ($P < 0,05$; $n=5$ animais/grupo).

Tabela 5. Proporção de elementos químicos presentes no fígado de camundongos Swiss adultos expostos a diferentes concentrações do herbicida Calaris®, por gavagem, durante 7 e 14 dias.

Elementos químicos (%)	7 dias			14 dias		
	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹	Controle	0,2 mg kg ⁻¹	2 mg kg ⁻¹
Sódio	24,76 ± 1,72	24,23 ± 1,56	23,04 ± 1,42	26,65 ± 2,02	24,23 ± 1,43	24,22 ± 1,83
Magnésio	5,50 ± 2,76	5,62 ± 1,31	3,94 ± 0,41	5,07 ± 1,87	5,08 ± 1,46	6,98 ± 1,59
Enxofre	8,06 ± 1,00	8,02 ± 0,72	7,19 ± 2,15	9,08 ± 2,18	7,57 ± 3,14	8,64 ± 3,42
Cloro	5,44 ± 3,48	6,93 ± 0,72	7,77 ± 2,41	6,26 ± 1,15	6,65 ± 1,42	5,35 ± 0,77
Potássio	7,15 ± 1,30	10,72 ± 3,42	10,99 ± 1,14	9,62 ± 1,11	10,00 ± 2,59	9,48 ± 1,25
Calcio	29,00 ± 1,74	26,52 ± 2,96	26,45 ± 3,08	24,92 ± 2,29	27,68 ± 2,20	25,01 ± 2,95
Manganês	4,62 ± 2,34	4,30 ± 1,51	3,92 ± 1,30	5,10 ± 1,41	4,58 ± 1,24	5,64 ± 1,57
Ferro	4,26 ± 1,19	4,84 ± 1,25	4,17 ± 0,91	4,82 ± 0,79	4,34 ± 1,10	3,66 ± 1,26
Cobre	5,36 ± 2,25	5,22 ± 1,38	4,47 ± 2,57	4,33 ± 1,67	4,58 ± 1,48	3,88 ± 1,45
Zinco	5,45 ± 1,90	4,46 ± 1,47	4,60 ± 2,03	5,39 ± 0,65	6,27 ± 1,41	6,71 ± 2,34

Média ± DP. Não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais e tempos de exposição pelo teste de Tukey (P > 0,05; n = 5 animais/grupo).

4.6 Análises histológicas

Todas as alterações histológicas presentes no parênquima hepático analisado foram relatadas, sendo observados três tipos: congestão, vacuolização e infiltrado inflamatório mononuclear (Fig. 4). Não foram encontrados focos de infiltrado polinucleados. Três camundongos de cada grupo controle de 7 e 14 dias não apresentaram alterações histológicas no parênquima hepático. Os hepatócitos estavam organizados em cordões, circundados por capilares sinusoides e vasos sanguíneos desobstruídos (Fig. 4A, 4D, 4G e 4H). Dois animais de cada grupo controle, nos 7 e 14 dias de experimento, apresentaram congestão de distribuição multifocal. Além disso, dois animais do grupo controle de 7 dias apresentaram vacuolização no citoplasma de hepatócitos com distribuição multifocal no fígado (Fig. 4G e 4H).

Todos os grupos expostos ao herbicida Calaris® em ambas as concentrações e tempos de exposição apresentaram congestão com distribuição multifocal, vacuolização no citoplasma de hepatócitos com distribuição multifocal e difusa e infiltrados inflamatórios mononucleares com distribuição multifocal, em, porém proporções diferentes (Fig 4B, 4C e 4E-4H).

A proporção de glicogênio no fígado não apresentou diferença entre os animais dos grupos controle e expostos ao Calaris® por 7 e 14 dias ($P > 0,05$; Fig. 5).

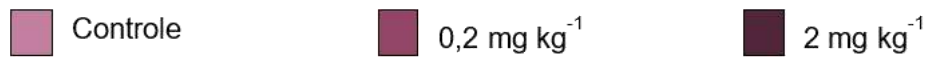
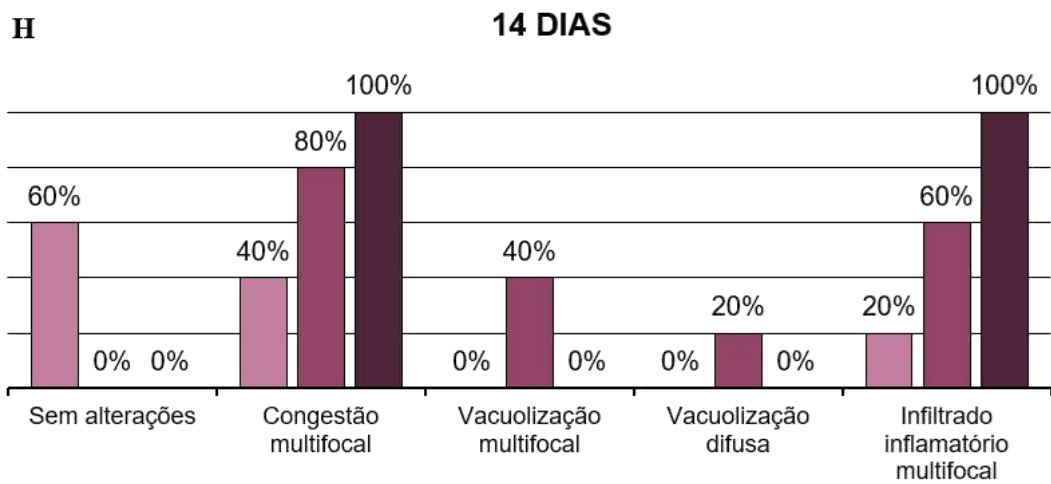
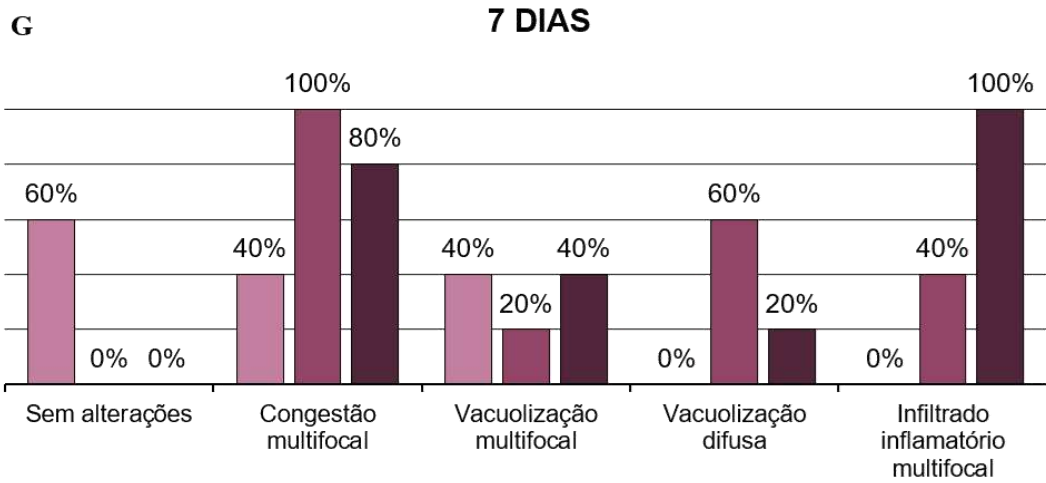
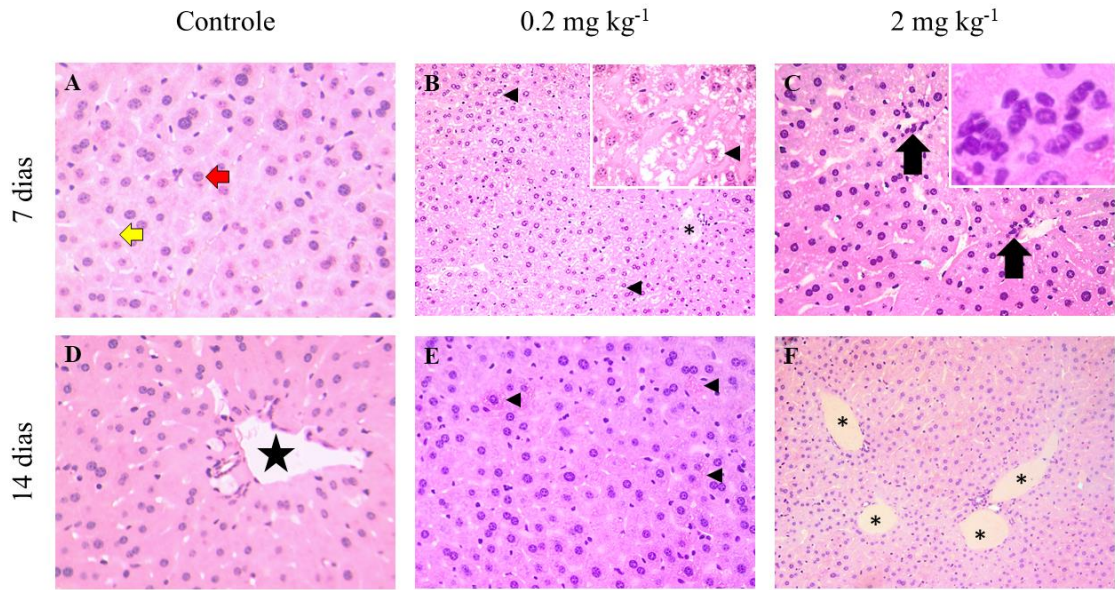


Figura 4. Fotomicrografias do fígado de camundongos Swiss submetidos à exposição do herbicida Calaris® por gavagem durante 7 e 14 dias. Coloração em hematoxilina e eosina (HE). As imagens A e D mostram parênquima hepático intacto, composto por hepatócitos (seta vermelha) dipostos em cordões e rodeados por capilares sinusóides (seta amarela), com vasos sanguíneos com lúmen desobstruído (estrela). As figuras B, C, E, e F representam o fígado de animais expostos ao herbicida. Na figura B é possível observar vacuolização (cabeça de seta) com distribuição difusa em aumento de 100x e aproximação de região vacuolizada em aumento de 400x. É possível observar também vaso congesto (asterisco). Na figura C é possível observar infiltrados inflamatórios mononucleares (seta preta), com distribuição multifocal em aumento de 200x e aproximação de células inflamatórias em aumento de 1000x. Na figura E é possível observar vacuolização (cabeça de seta preta), com distribuição multifocal. Na figura F é evidenciado congestão vascular (asterisco), com distribuição multifocal. Figura G: Proporção de ocorrência e distribuição de patologias em fígado de camundongos Swiss adultos expostos a diferentes concentrações do herbicida Calaris®, por gavagem, durante 7 dias. Figura H: Proporção de ocorrência e distribuição de patologias em fígado de camundongos Swiss adultos expostos a diferentes concentrações do herbicida Calaris®, por gavagem, durante 14 dias. Número de animais por grupo = 5. Multifocal: Mais de três pontos de lesão em um único corte histológico; Difusa: Lesão presente em todo o corte histológico.

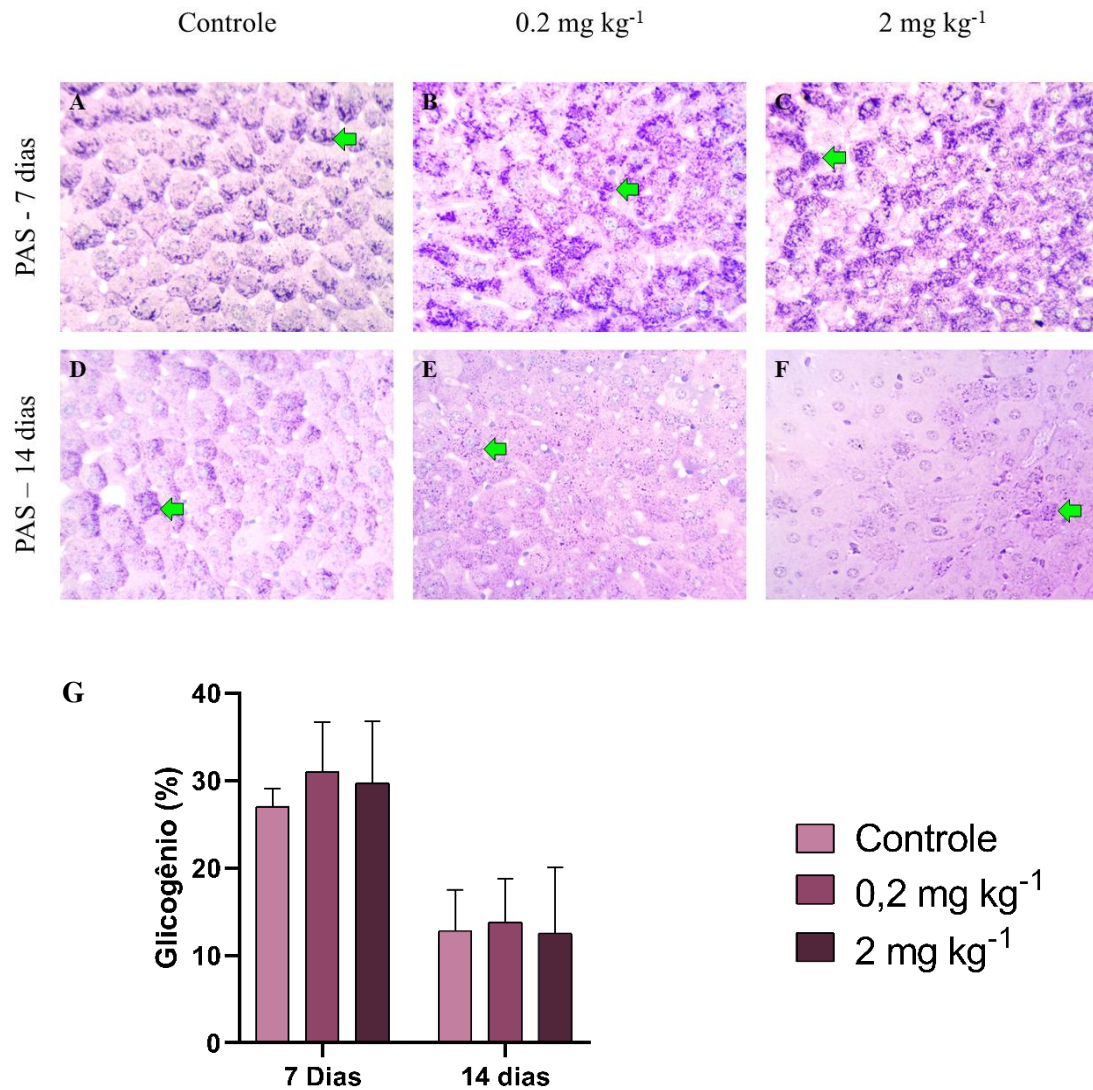


Figura 5: As fotomicrografias A, B, C, D, E e F revelam agregados de glicogênio (seta verde). Gráfico G mostra a proporção de glicogênio no fígado pela coloração de PAS. Média \pm DP. Não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais pelo teste de Tukey ($P > 0,05$; $n=5$).

5. Discussão

O presente estudo é o primeiro a avaliar os efeitos da exposição subaguda ao herbicida Calaris[®] sobre parâmetros hepáticos de camundongos. Essa mistura comercial de atrazina e mesotriona alterou concentrações séricas de AST e ALT e parâmetros hepáticos, como atividade de Na⁺/K⁺ ATPase e perfil das citocinas IL-2 e IL-6. Também foi possível observar algumas alterações histológicas em animais expostos ao herbicida, incluindo congestão, vacuolização e infiltrado inflamatório mononuclear. Por outro lado, não houve prejuízos em parâmetros biométricos, na proporção de elementos químicos, na atividade de enzimas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo, atividade de Ca²⁺ e Mg²⁺ ATPase, e no perfil das citocinas IL-4, IL-10, IL-17A, IFN e TNF.

A exposição a 2 mg kg⁻¹ de Calaris[®] por 14 dias gerou aumento na concentração sérica de ALT, enquanto a exposição à mesma concentração do herbicida por 7 dias levou ao aumento na concentração sérica de AST. A quantificação de enzimas permite a avaliação da saúde hepática e identificação de possíveis danos locais (Grob et al., 2023). A exposição a herbicidas pode comprometer a integridade das células hepáticas, levando a modificações na permeabilidade celular e eventual liberação de enzimas para o meio extracelular (Srivastav et al., 2019; Chabane et al., 2022). A AST é mais sensível às modificações induzidas por tóxicos e seu aumento pode ser detectado antes de danos estruturais (Carvalho et al., 2022). Estudos anteriores, como o de Al-Demerdash et al. (2012), mostraram um aumento da concentração sérica de ALT e AST em animais expostos de forma subaguda ao pesticida metomil. O aumento da concentração sérica dessas enzimas pode indicar o seu extravasamento para o meio extracelular. A exposição a atrazina já foi relacionada à diminuição de fosfolídeos, colesterol e lípidos totais de membranas de eritrócitos (Bhatti et al., 2011).

O herbicida resultou em um aumento na concentração da citocina pró-inflamatória IL-2 no fígado de camundongos expostos a 2 mg kg⁻¹ por 14 dias. Além disso, foi observado um

aumento na concentração da citocina pró-inflamatória IL-6 no fígado de camundongos expostos a 0,2 e 2 mg kg⁻¹ pelo mesmo período. Aliado a este resultado, foram identificados múltiplos focos de infiltrados inflamatórios mononucleares no fígado dos animais que receberam o herbicida em ambas as concentrações e nos dois tempos de exposição. A inflamação é uma resposta biológica fundamental que o organismo e suas células utilizam para se proteger contra estímulos nocivos, como patógenos, toxinas e lesões teciduais. A intoxicação aguda por pesticidas pode desencadear uma resposta inflamatória hepática imediata (Camacho-Pérez et al., 2022; Lopes-Ferreira et al., 2023), levando ao acúmulo de células imunes como macrófagos, linfócitos e monócitos no tecido afetado, culminando na formação de infiltrados inflamatórios (Ene et al., 2022). A IL-6 é responsável pela infiltração e maturação de células mononucleares no tecido, atuando como mediador de múltiplos efeitos no sistema imunológico do hospedeiro, incluindo respostas inflamatórias a diferentes estímulos (Pandolfi et al., 2020; Ene et al., 2022). Células presentes em infiltrados inflamatórios, como as células T, podem apresentar marcadores de ativação como a IL-2, uma citocina crítica para a homeostase imunológica, desempenhando um papel fundamental na tolerância imunológica (Shinkai et al., 2006; Vanasse et al., 2013). Chen e colaboradores (2014) observaram que uma baixa concentração do inseticida organofosforado dimetoato aumentou a concentração de mRNA de IL-6 no cérebro de ratos machos. Outro estudo apresentou que em experimentações *in vivo* e *in vitro* o herbicida glifosato induz processos inflamatórios, aumentando a expressão e concentração de citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e TNF- α , seguido de um aumento no número de células imunológicas, como neutrófilos e macrófagos (Lopes-Ferreira et al., 2023). Ratos expostos a uma mistura de agrotóxicos por 12 meses em concentrações baixas tiveram aumento da inflamação (Docea et al., 2019). Por isso, podemos sugerir que a exposição ao Calaris[®] causou alterações expressivas no perfil inflamatório do fígado, elevando a concentração de citocinas pró- inflamatórias no tecido e induzindo o aparecimento de múltiplos focos de infiltrados

inflamatórios mononucleares.

Neste estudo, as exposições de 7 e 14 dias ao Calaris® não alteraram a atividade enzimática antioxidante e as concentrações de marcadores de dano oxidativo. A ligação da atrazina aos sistemas redox de células-alvo, como o hepatócito, pode causar disfunção mitocondrial e ativar sistemas associados ao estresse oxidativo, desencadeando citotoxicidade, danos ao DNA e até mesmo apoptose (Abarikwu et al., 2023). Porém, estudos publicados já relataram que a atividade de enzimas antioxidantes e perfil de metabólitos oxidativos variam de forma dose-dependente (Adedara et al., 2016; Adedara et al., 2018; Javorac et al., 2021). Portanto, a ausência de alterações no perfil oxidativo nos animais expostos pode estar associada às baixas concentrações ministradas. Em estudos que investigaram a exposição subaguda a herbicidas em altas concentrações em ratos, houve aumento de marcadores de estresse oxidativo como MDA e H₂O₂ e redução da atividade da enzima CAT (Troudi et al., 2016; Qi et al., 2023). O estresse oxidativo envolve um desbalanço entre a geração de EROs e radicais livres e a capacidade de neutralizar esses produtos no organismo, a partir da atividade de substâncias enzimáticas e não enzimáticas. Normalmente, as enzimas antioxidantes metabolizam as EROs, enquanto os antioxidantes não enzimáticos previnem ou reduzem os danos causados pela oxidação, neutralizando os radicais livres e outros oxidantes (Sharifi-Rad et al., 2020). Quando livres no organismo, as EROs e os radicais livres podem danificar estruturas celulares fundamentais, como proteínas e DNA (Pizzino et al., 2017). Esse fenômeno acontece de maneira natural no organismo por meio do metabolismo celular, especialmente da atividade mitocondrial (Kowalczyk et al., 2021). As células hepáticas têm defesas antioxidantes robustas, que ajudam a manter as concentrações de EROs em equilíbrio fisiológico (Halliwell, 1999). Porém, quando o organismo é constantemente exposto a fatores adversos, como infecções virais, exposição a toxinas ou metais pesados, a mudança no equilíbrio redox em direção ao estresse oxidativo pode ser o início do desenvolvimento de doenças hepáticas (Li et al., 2015).

A exposição ao Calaris[®] resultou na redução da atividade da Na⁺/K⁺ ATPase no fígado de camundongos expostos à todas as concentrações e tempos de exposição testados no presente estudo. A Na⁺/K⁺ ATPase é responsável pela exportação de Na⁺ e importação de K⁺ na membrana, mantendo o equilíbrio eletroquímico celular funcional. Seu funcionamento, porém, pode ser comprometido quando exposto a substâncias tóxicas (Pivovarov et al., 2018). Modificações na atividade da Na⁺/K⁺ ATPase podem promover alterações na fluidez e na composição lipídica de membranas plasmáticas (Suwalsky et al., 1996). Segundo Vasić et al. (2008), o herbicida fenoxil pode incorporar em membranas celulares e modificar sua estrutura e função. A inibição ou modificação de ATPases por pesticidas tem efeito negativo no aproveitamento do ATP e no metabolismo energético dos animais, influenciando a atividades de outras enzimas reguladas por ATP ou ADP (Oluah et al., 2020). A redução na atividade da Na⁺/K⁺ ATPase pode resultar em desequilíbrio eletroquímico nos hepatócitos, levando ao acúmulo de água e inchaço intracelular, conhecido como degeneração hidrópica, alteração reversível comum em lesões agudas (Abdelhalim e Jarrar, 2011). Quando há degeneração hidrópica, o tecido pode apresentar coloração mais pálida, com vacúolos no interior das células (Mongin e Orlov, 2001; Miller e Zachary, 2017). A degeneração hidrópica no fígado pode ter poucas consequências para o funcionamento do órgão se removido o estímulo em um curto espaço de tempo (Haschek et al., 2010). Neste estudo, animais expostos às diferentes concentrações do Calaris[®] por 7 e 14 dias apresentaram no fígado vacuolizações, que podem estar associadas a um processo de degeneração hidrópica. Não foram observadas reduções significativas nas concentrações de Na e K, indicando que a diminuição na atividade da ATPase não foi causada pela deficiência destes elementos, sendo, provavelmente, associada à exposição ao agente tóxico (Cascorbi e Forêt, 1991; Vasić et al., 2008). Além disso, como nossos resultados não mostraram um aumento na proporção de cloro e enxofre, elementos centrais nas moléculas de atrazina e mesotriona, respectivamente, sugerimos que o fígado dos camundongos

expostos ao herbicida foi capaz de metabolizar o composto.

Os resultados de histologia do fígado evidenciaram a ocorrência de congestão vascular, além de infiltrado inflamatório mononuclear e vacuolização. A congestão foi a patologia mais recorrente. Ela é caracterizada pelo acúmulo excessivo de hemácias nos vasos sanguíneos, levando ao edema e turgidez (Destro et al., 2021). Quando associada a insuficiência cardíaca pode comprometer a circulação hepática e levar a degeneração hidrópica e esteatose, que são processos visualizados a partir da formação de vacúolos no citoplasma de hepatócitos (Brasileiro Filho, 2016). A presença de congestão e infiltrados inflamatórios mononucleares foi previamente relatada no fígado de ratos expostos aos herbicidas glifosato e propanil (Cağlar e Kolankaya, 2008; Cakici e Akat, 2013). Bhatti et al. (2011) relataram que a exposição a atrazina modificou a morfologia de hemácias, com o surgimento de margens irregulares e protuberâncias em análise de microscopia eletrônica de varredura. Os fatores associados à presença de congestão no fígado incluem um possível aumento da proporção e modificação da morfologia de hemácias. Estudos anteriores relataram que a exposição subaguda aos herbicidas atrazina, glifosato e quinclorac em baixas concentrações, levou a redução de glicogênio em hepatócitos de rãs-touro, sendo a diminuição do glicogênio resultado da necessidade de mobilização de compostos energéticos (Shiogiri et al, 2012; Dornelles e Oliveira, 2016). Entretanto, a exposição ao Calaris[®] não alterou proporção de glicogênio no fígado de camundongos em ambas as doses e períodos de exposição.

Animais expostos ao herbicida não apresentaram alterações no peso corporal e peso do fígado. Estudos experimentais com herbicidas geralmente indicam que o peso dos animais expostos tende a diminuir em relação aos controles devido a exposições mais longas e com concentrações maiores (Kandori et al., 2005). Segundo Wang et al. (2019b), os animais respondem de maneira diferente de acordo com o período de exposição a pesticidas, sendo os efeitos no peso corporal menos pronunciados quando a exposição é de curta duração e maiores

efeitos no peso corporal geralmente são observados ao final dos estudos de toxicidade após exposição prolongada. A exposição subaguda ao herbicida Calaris[®] foi capaz de desencadear alterações histológicas reversíveis e modificar parâmetros bioquímicos sem causar danos significativos. É possível que em uma exposição prolongada, teríamos observado a progressão dessas alterações, potencialmente comprometendo a função do fígado.

6. Conclusão

A exposição subaguda (7 e 14 dias) ao herbicida Calaris[®] causou modificações histológicas no fígado de camundongos Swiss adultos nas diferentes concentrações testadas, incluindo congestão, infiltrado inflamatório mononuclear e vacuolização. Além disso, a exposição à mistura comercial de atrazina e mesotriona alterou concentrações séricas de AST e ALT, IL-2 e IL-6, bem como a atividade de Na⁺/K⁺ ATPase. Outros parâmetros não foram afetados, como peso corporal e do órgão, proporção de elementos químicos, quantidade de marcadores de estresse oxidativo, atividade de enzimas antioxidantes, ATPases Ca²⁺ e Mg²⁺. Este estudo forneceu uma visão ampla dos efeitos no fígado após a exposição subaguda a essa mistura de herbicidas, entretanto são necessários estudos para avaliar os efeitos da exposição como período de tempo crônico do Calaris[®] bem como seus efeitos sistêmicos.

7. Referências

- Abarikwu S. O. (2014). Protective effect of quercetin on atrazine-induced oxidative stress in the liver, kidney, brain, and heart of adult wistar rats. *Toxicology international*, 21(2), 148–155. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.139794>
- Abarikwu, S. O., Ezim, O. E., Ikeji, C. N., & Farombi, E. O. (2023). Atrazine: cytotoxicity, oxidative stress, apoptosis, testicular effects and chemo preventive Interventions. *Frontiers in toxicology*, 5, 1246708. <https://doi.org/10.3389/ftox.2023.1246708>
- Abdelhalim, M. A., & Jarrar, B. M. (2011). Gold nanoparticles induced cloudy swelling to hydropic degeneration, cytoplasmic hyaline vacuolation, polymorphism, binucleation, karyopyknosis, karyolysis, karyorrhexis and necrosis in the liver. *Lipids in health and disease*, 10, 166. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-166>
- Adedara, I. A., Abolaji, A. O., Odion, B. E., Omolaja, A. A., Okwudi, I. J., & Farombi, E. O. (2016). Redox status of the testes and sperm of rats following exposure to 2,5-hexanedione. *Redox report: communications in free radical research*, 21(6), 239–247. <https://doi.org/10.1080/13510002.2015.1107312>
- Adedara, I. A., Omole, O., Okpara, E. S., Fasina, O. B., Ayeni, M. F., Ajayi, O. M., Busari, E. O., & Farombi, E. O. (2018). Impact of prepubertal exposure to dietary protocatechuic acid on the hypothalamic-pituitary-testicular axis in rats. *Chemico-biological interactions*, 290, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.05.013>
- Aebi, H., (1984). Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105(C), 121–126. [Doi:10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmed, N., Aljuhani, N., Al-Hujaili, H. S., Al-Hujaili, M. A., Elkablawy, M. A., Noah, M. M., Abo-Haded, H., & El-Agamy, D. S. (2018). Agmatine protects against sodium valproate-induced hepatic injury in mice via modulation of nuclear factor- κ B/inducible nitric oxide synthetase pathway. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 32(12), e22227. <https://doi.org/10.1002/jbt.22227>
- Alberts, B., et al. (2017). *Fundamentos da biologia celular* (4^a ed.). Porto Alegre: Artmed
- Almazroo, O. A., Miah, M. K., & Venkataramanan, R. (2017). Drug Metabolism in the Liver. *Clinics in liver disease*, 21(1), 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2016.08.001>
- Amin, A., Ali, A., & Al-Mutheffer, E. (2020). Biochemical changes induced by general anesthesia with romifidine as a premedication, midazolam and ketamine induction and maintenance by infusion in donkeys. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 26(Suppl. II), 19-22. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2020.167130>

- ANVISA. (2022). Monografias autorizadas. Recuperado de <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas-por-letra>
- Araújo, R. D. S., Bernardes, R. C., & Martins, G. F. (2021). A mixture containing the herbicides Mesotrione and Atrazine imposes toxicological risks on workers of *Partamona helleri*. *The Science of the total environment*, 763, 142980. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142980>
- Araújo, R. D. S., Viana, T. A., Botina, L. L., Bastos, D. S. S., da Silva Alves, B. C., Machado-Neves, M., Bernardes, R. C., & Martins, G. F. (2023). Investigating the effects of mesotrione/atrazine-based herbicide on honey bee foragers. *The Science of the total environment*, 898, 165526. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165526>
- Arriero, M. M., López-Farré, A., Fryeiro, O., Rodríguez-Feo, J. A., Velasco, S., García-Durán, M., Fortes, J., De La Pinta, J. C., Muñoz, L. E., & Celdrán, A. (2001). Expression of inducible nitric oxide synthase in the liver of bile duct-ligated Wistar rats with modulation by lymphomononuclear cells. *Surgery*, 129(3), 255–266. <https://doi.org/10.1067/msy.2001.110427>
- Barbieri, G. F., Young, B. G., Dayan, F. E., Streibig, J. C., Takano, H. K., Merotto, A., & Avila, L. A. d. (2022). Herbicide mixtures: interactions and modeling. *Advances in Weed Science*, 40(spe1). <https://doi.org/10.51694/advweedsci/2022;40:seventy-five011>
- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. D. C. G., De Paula, S. O., Minim, V. P. R., & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de nutrição*, 23, 629-643. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>.
- Barchanska, H., Rusek, M., & Szatkowska, A. (2012). New procedures for simultaneous determination of mesotrione and atrazine in water and soil. Comparison of the degradation processes of mesotrione and atrazine. *Environmental monitoring and assessment*, 184(1), 321–334. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-1970-5>
- Benedetti, M. S., Whomsley, R., Poggesi, I., Cawello, W., Mathy, F. X., Delporte, M. L., Papeleu, P., & Watelet, J. B. (2009). Drug metabolism and pharmacokinetics. *Drug metabolism reviews*, 41(3), 344–390. <https://doi.org/10.1080/10837450902891295>
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J., (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of ‘‘Antioxidant Power’’: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76

- Bethsass, J. & Colangelo, A. (2006). European Union bans atrazine, while the United States negotiates continued use. *International journal of occupational and environmental health*, 12(3), 260–267. <https://doi.org/10.1179/oeh.2006.12.3.260>
- Bhatti, J. S., Sidhu, I. P., & Bhatti, G. K. (2011). Ameliorative action of melatonin on oxidative damage induced by atrazine toxicity in rat erythrocytes. *Molecular and cellular biochemistry*, 353(1-2), 139–149. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-0780-y>
- Billet, L., Devers, M., Rouard, N., Martin-Laurent, F., & Spor, A. (2019). Labour sharing promotes coexistence in atrazine degrading bacterial communities. *Scientific reports*, 9(1), 18363. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54978-2>
- Bonting, S. L., Caravaggio, L. L., & Hawkins, N. M. (1962). Studies on sodium-potassium-activated adenosinetriphosphatase. IV. Correlation with cation transport sensitive to cardiac glycosides. *Archives of biochemistry and biophysics*, 98, 413–419. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(62\)90206-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(62)90206-0)
- Boopathy, Raj. (2016). Anaerobic degradation of atrazine. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 119. [10.1016/j.ibiod.2016.10.002](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.002).
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.
- Brasil. (2005). Resolução No 357, de 17 de março de 2005. *Diário Oficial da União (DOU)* nº 053, de 18 de março de 2005, páginas 58-63.
- Brasileiro Filho, G (2016). *Bogliolo Patologia Geral*. 9ª edição. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan.
- Bravim, N. P. B., Alves, A. F., & Orlanda, J. F. F. (2020). Biodegradation of atrazine, glyphosate and pendimetaline employing fungal consortia. *Research, Society and Development*, 9(11), e1549119679. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9679>
- Brovini, E. M., de Deus, B. C. T., Vilas-Boas, J. A., Quadra, G. R., Carvalho, L., Mendonça, R. F., Pereira, R. O., & Cardoso, S. J. (2021). Three-best-seller pesticides in Brazil: Freshwater concentrations and potential environmental risks. *The Science of the total environment*, 771, 144754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144754>
- Brown, M. A., & Hural, J. (2017). Functions of IL-4 and Control of Its Expression. *Critical reviews in immunology*, 37(2-6), 181–212. <https://doi.org/10.1615/CritRevImmunol.v37.i2-6.30>

- Cağlar, S., & Kolankaya, D. (2008). The effect of sub-acute and sub-chronic exposure of rats to the glyphosate-based herbicide Roundup. *Environmental toxicology and pharmacology*, 25(1), 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2007.08.011>
- Cakici, O., & Akat, E. (2013). Propanil-induced histopathological changes in the liver and kidney of mice. *Analytical and quantitative cytopathology and histopathology*, 35(3), 163–170.
- Camacho-Pérez, M. R., Covantes-Rosales, C. E., Toledo-Ibarra, G. A., Mercado-Salgado, U., Ponce-Regalado, M. D., Díaz-Resendiz, K. J. G., & Girón-Pérez, M. I. (2022). Organophosphorus Pesticides as Modulating Substances of Inflammation through the Cholinergic Pathway. *International journal of molecular sciences*, 23(9), 4523. <https://doi.org/10.3390/ijms23094523>
- Canli, E. G., Atli, G., & Canli, M. (2016). Responses of the Antioxidant and Osmoregulation Systems of Fish Erythrocyte Following Copper Exposures in Differing Calcium Levels. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(5), 601–608. doi:10.1007/s00128-016-1931-3
- Caputo, L. F. G., Gitirana, L. De B., Manso, & P. P. De A. (2010). Técnicas Histológicas. In: Molinaro, E., Caputo, L., Amendoeira, R. (Org.). *Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde*. Rio de Janeiro: EPSJV; p. 89-188.
- Carles, L., Joly, M., & Joly, P. (2017). Mesotrione herbicide: Efficiency, effects, and fate in the environment after 15 years of agricultural use. *Clean – Soil, Air, Water*. <https://doi.org/10.1002/clen.201700011>
- Carvalho, R. P. R., Ribeiro, F. C. D., Lima, T. I., Ervilha, L. O. G., de Oliveira, E. L., Faustino, A. O., Lima, G. D. A., & Machado-Neves, M. (2022). High doses of eugenol cause structural and functional damage to the rat liver. *Life sciences*, 304, 120696. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120696>
- Cascorbi, I., & Forêt, M. (1991). Interaction of xenobiotics on the glucose-transport system and the Na⁺/K⁺ - ATPase of human skin fibroblasts. *Ecotoxicology and environmental safety*, 21(1), 38–46. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(91\)90006-b](https://doi.org/10.1016/0147-6513(91)90006-b)
- Chabane, K., Khene, M. A., Zaida, F., Ainouz, L., Giaimis, J., Mameri, S., & Baz, A. (2022). Subacute and subchronic methomyl exposure induced toxic effects on intestines via oxidative stress in male albino rats: biochemical and histopathological study. *Drug and chemical toxicology*, 45(2), 523–536. <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1727496>
- Chen, D., Zhang, Z., Yao, H., Cao, Y., Xing, H., & Xu, S. (2014). Pro- and anti-inflammatory cytokine expression in immune organs of the common carp exposed to atrazine and

- chlorpyrifos. *Pesticide biochemistry and physiology*, 114, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.07.011>
- Chertov, O., Yang, D., Howard, O. M., & Oppenheim, J. J. (2000). Leukocyte granule proteins mobilize innate host defenses and adaptive immune responses. *Immunological reviews*, 177, 68–78. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065x.2000.17702.x>
- Cline, G. W., Rothman, D. L., Magnusson, I., Katz, L. D., & Shulman, G. I. (1994). ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy studies of hepatic glucose metabolism in normal subjects and subjects with insulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of clinical investigation*, 94(6), 2369-2376.
- Coico, R., & Sunshine, G. (2009). *Immunology: A Short Course* (6th ed., pp. 119, 128). New Jersey.
- Cullen, J.M., & Stalker, M.J. (2016). Liver and Biliary System. *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 2*, 258 - 352.e1.
- Dai, S., Georgelis, N., Bedair, M., Hong, Y. J., Qi, Q., Larue, C. T., Sitoula, B., Huang, W., Krebel, B., Shepard, M., Su, W., Kretzmer, K., Dong, J., Slewinski, T., Berger, S., Ellis, C., Jerga, A., & Varagona, M. (2022). Ectopic expression of a rice triketone dioxygenase gene confers mesotrione tolerance in soybean. *Pest management science*, 78(7), 2816–2827. <https://doi.org/10.1002/ps.6904>
- Destro, A. L. F., Silva, S. B., Gregório, K. P., de Oliveira, J. M., Lozi, A. A., Zuanon, J. A. S., Salaro, A. L., da Matta, S. L. P., Gonçalves, R. V., & Freitas, M. B. (2021). Effects of subchronic exposure to environmentally relevant concentrations of the herbicide atrazine in the Neotropical fish *Astyanax altiparanae*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 208, 111601. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111601>
- Dieterich, S., Bieligk, U., Beulich, K., Hasenfuss, G., Prestle, J., (2000). Gene Expression of Antioxidative Enzymes in the Human Heart: Increased Expression of Catalase in the End-Stage Failing Heart. *Circulation*, 101(1), 33–39. doi:10.1161/01.cir.101.1.33
- Ding, Y., Zhao, J., Zhang, X., Wang, S., Viola, K. L., Chow, F. E., Zhang, Y., Lippa, C., Klein, W. L., & Gong, Y. (2019). Amyloid Beta Oligomers Target to Extracellular and Intracellular Neuronal Synaptic Proteins in Alzheimer's Disease. *Frontiers in neurology*, 10, 1140. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.01140>
- Docea, A. O., Goumenou, M., Calina, D., Arsene, A. L., Dragoi, C. M., Gofita, E., Pisoschi, C. G., Zlatian, O., Stivaktakis, P. D., Nikolouzakis, T. K., Kalogeraki, A., Izotov, B. N., Galateanu, B., Hudita, A., Calabrese, E. J., & Tsatsakis, A. (2019). Adverse and hormetic effects in rats exposed for 12 months to low dose mixture of 13 chemicals:

- RLRS part III. *Toxicology letters*, 310, 70–91.
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.04.005>
- Donley, N. (2019). The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides. *Environmental Health*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0488-0>
- Dornelles, M. F., & Oliveira, G. T. (2016). Toxicity of atrazine, glyphosate, and quinclorac in bullfrog tadpoles exposed to concentrations below legal limits. *Environmental science and pollution research international*, 23(2), 1610–1620.
<https://doi.org/10.1007/s11356-015-5388-4>
- Ene, C. V., Nicolae, I., Geavlete, B., Geavlete, P., & Ene, C. D. (2022). IL-6 Signaling Link between Inflammatory Tumor Microenvironment and Prostatic Tumorigenesis. *Analytical cellular pathology (Amsterdam)*, 2022, 5980387.
<https://doi.org/10.1155/2022/5980387>
- Estrela-Lima, A., Araújo, M. S., Costa-Neto, J. M., Teixeira-Carvalho, A., Barrouin-Melo, S. M., Cardoso, S. V., Martins-Filho, O. A., Serakides, R., & Cassali, G. D. (2010). Immunophenotypic features of tumor infiltrating lymphocytes from mammary carcinomas in female dogs associated with prognostic factors and survival rates. *BMC cancer*, 10, 256. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-256>
- EUR-Lex (2017). Commission Implementing Regulation (EU) 2017. *Official Journal of the European Union*.
- Factor, P., Saldias, F., Ridge, K., Dumasius, V., Zabner, J., Jaffe, H. A., Blanco, G., Barnard, M., Mercer, R., Perrin, R., & Sznajder, J. I. (1998). Augmentation of lung liquid clearance via adenovirus-mediated transfer of a Na,K-ATPase beta1 subunit gene. *The Journal of clinical investigation*, 102(7), 1421–1430. <https://doi.org/10.1172/JCI3214>
- Felisbino, K., Santos-Filho, R., Piancini, L. D. S., Cestari, M. M., & Leme, D. M. (2018). Mesotrione herbicide does not cause genotoxicity, but modulates the genotoxic effects of atrazine when assessed in mixture using a plant test system (*allium cepa*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 150, 83-88. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.07.009>
- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clinical and experimental immunology*, 147(2), 227–235.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x>
- Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J., & Zeller, R. (2008). Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH protocols*, 2008, pdb.prot4986.
<https://doi.org/10.1101/pdb.prot4986>

- Fujita, T., Kurokawa, H., Han, Z., Zhou, Y., Matsui, H., Ponou, J., & Wei, Y. (2021). Free radical degradation in aqueous solution by blowing hydrogen and carbon dioxide nanobubbles. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82717-z>
- Fukatsu T. (2001). Rinsho byori. *The Japanese journal of clinical pathology*, Suppl 116, 27–35.
- Gaines, T. A., Slavov, G. T., Hughes, D., Küpper, A., Sparks, C. D., Oliva, J., Vila-Aiub, M. M., Garcia, M. A., Merotto, A., Jr, & Neve, P. (2021). Investigating the origins and evolution of a glyphosate-resistant weed invasion in South America. *Molecular ecology*, 30(21), 5360–5372. <https://doi.org/10.1111/mec.16221>
- Galván Josa, V., Castellano, G., & Bertolino, S. R. (2013). Quantification by SEM–EDS in uncoated non-conducting samples. *Radiation Physics and Chemistry*, 88, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.03.033>
- Gengec, N. (2022). The atrazine removal with the polyaniline coated rice husk as a cheap adsorbent. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(2), 138-147. <https://doi.org/10.55117/bufbd.1005047>
- Grebenciucova, E., & VanHaerents, S. (2023). Interleukin 6: at the interface of human health and disease. *Frontiers in immunology*, 14, 1255533. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1255533>
- Grob, S. R., Suter, F., Katzke, V., & Rohrmann, S. (2023). The Association between Liver Enzymes and Mortality Stratified by Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: An Analysis of NHANES III. *Nutrients*, 15(13), 3063. <https://doi.org/10.3390/nu15133063>
- Guo, K. L., Zhao, L. X., Wang, Z. W., Gao, Y. C., Li, J. J., Gao, S., Fu, Y., & Ye, F. (2020). Design, Synthesis, and Bioevaluation of Substituted Phenyl Isoxazole Analogues as Herbicide Safeners. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(39), 10550–10559. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01867>
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B., (1974). Glutathione S-Transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249, 7130–7140.
- Hafték, M., Abdayem, R., & Guyonnet-Debersac, P. (2022). Skin Minerals: Key Roles of Inorganic Elements in Skin Physiological Functions. *International journal of molecular sciences*, 23(11), 6267. <https://doi.org/10.3390/ijms23116267>
- Halliwell B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free radical research*, 31(4), 261–272. <https://doi.org/10.1080/10715769900300841>

- Han, X., Kitamoto, S., Wang, H., & Boisvert, W. A. (2010). Interleukin-10 overexpression in macrophages suppresses atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 24(8), 2869–2880. <https://doi.org/10.1096/fj.09-148155>
- Haschek, W. M., Rousseaux, C. G., & Wallig, M. A. (2010). Manifestations of toxic cell injury. *Fundamentals of Toxicologic Pathology*, 9-42. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-370469-6.00002-7>
- Hauck, A. K., Zhou, T., Hahn, W., Petegrosso, R., Kuang, R., Chen, Y., & Bernlohr, D. A. (2018). Obesity-induced protein carbonylation in murine adipose tissue regulates the DNA-binding domain of nuclear zinc finger proteins. *The Journal of biological chemistry*, 293(35), 13464–13476. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.003469>
- He, H., Liu, Y., You, S., Liu, J., He, X., & Tu, Z. (2019). A review on recent treatment technology for herbicide atrazine in contaminated environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(24), 5129. <https://doi.org/10.3390/ijerph16245129>
- He, X., Wu, C., Tan, H., Deng, X., & Li, Y. (2023). Impacts of combined exposure to glyphosate and diquat on microbial community structure and diversity in a lateritic paddy soil. *Preprints* <https://doi.org/10.20944/preprints202304.0851.v1>
- Hellenbrand, D. J., Quinn, C. M., Piper, Z. J., Morehouse, C. N., Fixel, J. A., & Hanna, A. S. (2021). Inflammation after spinal cord injury: a review of the critical timeline of signaling cues and cellular infiltration. *Journal of neuroinflammation*, 18(1), 284. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02337-2>
- Hjertén, S., & Pan, H. (1983). Purification and characterization of two forms of a low-affinity Ca²⁺-ATPase from erythrocyte membranes. *Biochimica et biophysica acta*, 728(2), 281–288. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(83\)90480-7](https://doi.org/10.1016/0005-2736(83)90480-7)
- Hodeify, R., Chakkour, M., Rida, R., & Kreydiyyeh, S. (2021). PGE₂ upregulates the Na⁺/K⁺ ATPase in HepG2 cells via EP4 receptors and intracellular calcium. *PloS one*, 16(1), e0245400. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245400>
- Honma, Y., Shibata, M., Gohda, T., Matsumiya, H., Kumamoto, K., Miyama, A., Morino, K., Koya, Y., Taira, A., Shinohara, S., Hayashi, T., Kusanaga, M., Oe, S., Miyagawa, K., Abe, S., Tanaka, F., & Harada, M. (2021). Rapid Progression of Liver Fibrosis Induced by Acute Liver Injury Due to Immune-related Adverse Events of Atezolizumab. *Internal medicine* (Tokyo, Japan), 60(12), 1847–1853. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.6535-20>

- Huang, C., Sali, A., & Stevens, R. L. (1998). Regulation and function of mast cell proteases in inflammation. *Journal of clinical immunology*, 18(3), 169–183. <https://doi.org/10.1023/a:1020574820797>
- Ijaz, M. U., Ghafoor, N., Hayat, M. F., Almutairi, B. O., & Atique, U. (2024). Amentoflavone mediated hepatoprotection to counteract paraquat instigated hepatotoxicity via modulating Nrf2/keap1 pathway: A biochemical, inflammatory, apoptotic and histopathological study. *Pesticide biochemistry and physiology*, 198, 105715. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105715>
- Iluz-Freundlich, D., Zhang, M., Uhanova, J., & Minuk, G. Y. (2020). The relative expression of hepatocellular and cholestatic liver enzymes in adult patients with liver disease. *Annals of hepatology*, 19(2), 204–208. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.08.004>
- Jabbour, H. N., Sales, K. J., Catalano, R. D., & Norman, J. E. (2009). Inflammatory pathways in female reproductive health and disease. *Reproduction (Cambridge, England)*, 138(6), 903–919. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0247>
- Javaroni, R. de C. A., Landgraf, M. D., & Rezende, M. O. O.. (1999). Comportamento dos herbicidas atrazina e alaclor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. *Química Nova*, 22(1), 58–64. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000100012>
- Javorac, D., Antonijević, B., Anđelković, M., Repić, A., Bulat, P., Djordjevic, A. B., Baralić, K., Đukić-Ćosić, D., AntoniĆ, T., & Bulat, Z. (2021). Oxidative stress, metallomics and blood toxicity after subacute low-level lead exposure in Wistar rats: Benchmark dose analyses. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, 291, 118103. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118103>
- Jestadi, D., Alugoju, P., Babji, U., Srinu, T., Shanmuganathan, B., & Periyasamy, L. (2014). Effects of short term exposure of atrazine on the liver and kidney of normal and diabetic rats. *Journal of Toxicology*, 2014, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2014/536759>
- Jhala, A. J., Kumar, V., Yadav, R., Jha, P., Jugulam, M., Williams, M. M. II, Hausman, N. E., Dayan, F. E., Burton, P. M., Dale, R. P., & Norsworthy, J. K. (2022). 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (hppd)-inhibiting herbicides: past, present, and future. *Weed Technology*, 37(1), 1-14. <https://doi.org/10.1017/wet.2022.79>
- Jin, D., Cui, Z., Jin, S., Zhou, T., Guo, B., & Li, G. (2023). Comparison of efficacy of anti-diabetics on non-diabetic nafld: a network meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1096064>

- Jin, Y., Wang, L., Chen, G., Lin, X., Miao, W., & Fu, Z. (2014). Exposure of mice to atrazine and its metabolite diaminochlorotriazine elicits oxidative stress and endocrine disruption. *Environmental toxicology and pharmacology*, 37(2), 782–790. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.014>
- Johnson, B. C.; Young, B. G.; Matthews, J. L. Effect of postemergence application rate and timing of mesotrione on corn (*Zea mays*) response and weed control. *Weed Technology*, v. 16, n. 2, p. 414–420, 2002.
- Johnson, S. E., & Sherding, R. G. (2006). Diseases of the Liver and Biliary Tract. *Saunders Manual of Small Animal Practice*, 747–809. <https://doi.org/10.1016/B0-72-160422-6/50073-5>
- Joo, H., Choi, K., & Hodgson, E. (2010). Human metabolism of atrazine. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(1), 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.05.002>
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2017) *Histologia básica*. 13ª edição. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan.
- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C. J., & Tuma, F. (2023). Physiology, Liver. In StatPearls. *StatPearls Publishing*.
- Kandori, H., Suzuki, S., Asamoto, M., Murasaki, T., Mingxi, T., Ogawa, K., & Shirai, T. (2005). Influence of atrazine administration and reduction of calorie intake on prostate carcinogenesis in probasin/SV40 T antigen transgenic rats. *Cancer science*, 96(4), 221–226. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2005.00041.x>
- Khan, F., Sen, T., & Chakrabarti, S. (2003). Dopamine oxidation products inhibit Na^+ , K^+ -atpase activity in crude synaptosomal–mitochondrial fraction from rat brain. *Free Radical Research*, 37(6), 597-601. <https://doi.org/10.1080/1071576031000115651>
- Kinoshita, P. F., Orellana, A. M. M., Nakao, V. W., de Souza Port's, N. M., Quintas, L. E. M., Kawamoto, E. M., & Scavone, C. (2022). The Janus face of ouabain in $Na^+ /K^+ -ATPase$ and calcium signalling in neurons. *British journal of pharmacology*, 179(8), 1512–1524. <https://doi.org/10.1111/bph.15419>
- Kowalczyk, P., Sulejczak, D., Kleczkowska, P., Bukowska-Ośko, I., Kucia, M., Popiel, M., Wietrak, E., Kramkowski, K., Wrzosek, K., & Kaczyńska, K. (2021). Mitochondrial Oxidative Stress-A Causative Factor and Therapeutic Target in Many Diseases. *International journal of molecular sciences*, 22(24), 13384. <https://doi.org/10.3390/ijms222413384>

- Kuo S-W, Su W-L, Chou T-C. Baicalin improves the survival in endotoxic mice and inhibits the inflammatory responses in LPS-treated RAW 264.7 macrophages. *European Journal of Inflammation*. 2020;18. doi:10.1177/2058739220967767
- Kusumoto, D., Yuasa, S., & Fukuda, K. (2022). Induced pluripotent stem cell-based drug screening by use of artificial intelligence. *Pharmaceuticals*, 15(5), 562. <https://doi.org/10.3390/ph15050562>
- Leal, D., Dick, D., Stahl, A., Köppchen, S., & Burauel, P. (2019). Atrazine degradation patterns: the role of straw cover and herbicide application history. *Scientia Agricola*, 76(1), 63-71. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2017-0230>
- Leng, X., Liu, C., & Ye, F. (2022). Synthesis, crystal structure and biological activity of two triketone-containing quinoxalines as hppd inhibitors. *Acta Chimica Slovenica*, 69(4), 779-786. <https://doi.org/10.17344/acsi.2022.7516>
- Leone, F. A., Lucena, M. N., Fabri, L. M., Garçon, D. P., Fontes, C. F. L., Faleiros, R. O., Moraes, C. M., & McNamara, J. C. (2020). Effect of salinity on modulation by ATP, protein kinases, and FXYD2 peptide of gill (Na⁺ K⁺)-ATPase activity in the swamp ghost crab *Ucides cordatus* (Brachyura, Ocypodidae). *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.04.24.058297>
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(11), 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- Lin, J., Li, H., Qin, L., Du, Z., Xia, J., & Li, J. (2016). A novel mechanism underlies atrazine toxicity in quails (*coturnix coturnix coturnix*): triggering ionic disorder via disruption of atpases. *Oncotarget*, 7(51), 83880-83892. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13794>
- Liu, X., Zhang, Y., Liu, L., Pan, Y., Hu, Y., Yang, P., & Liao, M. (2020). Protective and therapeutic effects of nanoliposomal quercetin on acute liver injury in rats. *BMC pharmacology & toxicology*, 21(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s40360-020-0388-5>
- Long, X., Song, J., Zhao, X., Zhang, Y., Wang, H., Liu, X., & Suo, H. (2019). Silkworm pupa oil attenuates acetaminophen-induced acute liver injury by inhibiting oxidative stress-mediated NF-κB signaling. *Food science & nutrition*, 8(1), 237–245. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1296>
- Lopes-Ferreira, M., Farinha, L. R. L., Costa, Y. S. O., Pinto, F. J., Disner, G. R., da Rosa, J. G. D. S., & Lima, C. (2023). Pesticide-Induced Inflammation at a Glance. *Toxics*, 11(11), 896. <https://doi.org/10.3390/toxics11110896>

- Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI journal*, 17, 1101–1136. <https://doi.org/10.17179/excli2018-1710>
- Machado-Neves M. (2022). Effect of heavy metals on epididymal morphology and function: An integrative review. *Chemosphere*, 291(Pt 2), 133020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133020>
- Manno, M. (1996). Herbicides. *Human Toxicology – Chapter 21*, 551-560. <https://doi.org/10.1016/B978-044481557-6/50023-X>
- Medzhitov R. (2010). Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell*, 140(6), 771–776. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.006>
- Mehtiyev, T., Karaman, E., & Ozden, S. (2023). Alterations in cell viability, reactive oxygen species production, and modulation of gene expression involved in mitogen-activated protein kinase/extracellular regulating kinase signaling pathway by glyphosate and its commercial formulation in hepatocellular carcinoma cells. *Toxicology and Industrial Health*, 39(2), 81-93. <https://doi.org/10.1177/07482337221149571>
- Miller, M. A. & Zachary, J. F. (2017). Mechanisms and morphology of cellular injury, adaptation, and death. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, 2-43.e19. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-35775-3.00001-1>
- Minciullo, P., Inferrera, A., Navarra, M., Calapai, G., Magno, C., & Gangemi, S. (2014). Oxidative stress in benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *Urologia Internationalis*, 94(3), 249-254. <https://doi.org/10.1159/000366210>
- Moghbeli, M., Khedmatgozar, H., Yadegari, M., Avan, A., Ferns, G. A., & Ghayour Mobarhan, M. (2021). Cytokines and the immune response in obesity-related disorders. *Advances in clinical chemistry*, 101, 135–168. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2020.06.004>
- Mongin, A. A., & Orlov, S. N. (2001). Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of the cell volume sensor. *Pathophysiology: the official journal of the International Society for Pathophysiology*, 8(2), 77–88. [https://doi.org/10.1016/s0928-4680\(01\)00074-8](https://doi.org/10.1016/s0928-4680(01)00074-8)
- Moody, R. P., Franklin, C. A., Ritter, L., & Maibach, H. I. (1990). Dermal absorption of the phenoxy herbicides 2,4-d, 2,4-d amine, 2,4-d isooctyl, and 2,4,5-t in rabbits, rats, rhesus monkeys, and humans: a cross-species comparison. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 29(3), 237-245. <https://doi.org/10.1080/15287399009531387>
- Morel, M., Ngadin, A. A., Droux, M., Jacquot, J. P., & Gelhaye, E. (2009). The fungal glutathione S-transferase system. Evidence of new classes in the wood-degrading

- basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 66(23), 3711–3725. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0104-5>
- Moss D. W. (1982). Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clinical chemistry*, 28(10), 2007–2016.
- Muire, P. J., Mangum, L. H., & Wenke, J. C. (2020). Time course of immune response and immunomodulation during normal and delayed healing of musculoskeletal wounds. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01056>
- Müller, F., Appleby, A.P. (2010) Weed Control, 1. *Fundamentals*. In book: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. DOI:10.1002/14356007.a28_165.pub2
- Nagai, R., Zarain-Herzberg, A., Brandl, C. J., Fujii, J., Tada, M., MacLennan, D. H., Alpert, N. R., & Periasamy, M. (1989). Regulation of myocardial Ca²⁺-ATPase and phospholamban mRNA expression in response to pressure overload and thyroid hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(8), 2966–2970. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.8.2966>
- Nagy, A., Cortinovis, C., Spicer, L. J., Perego, M. C., & Caloni, F. (2018). Long-established and emerging pesticide poisoning in horses. *Equine Veterinary Education*, 31(9), 496-500. <https://doi.org/10.1111/eve.12887>
- Nalluri, N. & Karri, V. (2020). Recent advances in genetic manipulation of crops: a promising approach to address the global food and industrial applications. *Plant Science Today*, 7(1), 70-92. <https://doi.org/10.14719/pst.2020.7.1.659>
- Narváez-Cuenca, C., Espinal-Ruiz, M., & Restrepo-Sánchez, L. (2011). Heat shock reduces both chilling injury and the overproduction of reactive oxygen species in yellow pitaya (*Hylocereus megalanthus*) fruits. *Journal of Food Quality*, 34(5), 327-332. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2011.00398.x>
- Nathan, C., & Ding, A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell*, 140(6), 871–882. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029>
- National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 175967, Mesotrione. Retrieved August 1, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mesotrione>.
- Negishi, H., Taniguchi, T., & Yanai, H. (2018). The Interferon (IFN) Class of Cytokines and the IFN Regulatory Factor (IRF) Transcription Factor Family. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(11), a028423. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028423>
- Nelson, M., Baba, S., & Anderson, E. (2017). Biogenic aldehydes as therapeutic targets for cardiovascular disease. *Current Opinion in Pharmacology*, 33, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.04.004>

- Ni, Y., Lai, J., Wan, J., & Chen, L. (2014). Photosynthetic responses and accumulation of mesotrione in two freshwater algae. *Environmental science. Processes & impacts*, 16(10), 2288–2294. <https://doi.org/10.1039/c4em00254g>
- Norsworthy, J., Richburg, J., Barber, T., Roberts, T., & Gbur, E. (2020). Tolerance of grain sorghum to pre- and post-applied photosystem ii-inhibiting herbicides. *Weed Technology*, 34(5), 699-703. <https://doi.org/10.1017/wet.2020.42>
- O'Sullivan, J., Zandstra, J., & Sikkema, P. (2002). Sweet corn (zea mays) cultivar sensitivity to mesotrione*. *Weed Technology*, 16(2), 421-425. [https://doi.org/10.1614/0890-037x\(2002\)016\[0421:sczmcs\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0890-037x(2002)016[0421:sczmcs]2.0.co;2)
- Odi, P., Chris-Ozoko, L., & Oyovwi, M. (2022). Mature wistar rats' spleen and liver histomorphological changes related to the duration of atrazine exposure. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 73-78. <https://doi.org/10.9734/ajrimps/2022/v11i4204>
- Oh, R. C., Hustead, T. R., Ali, S. M., & Pantsari, M. W. (2017). Mildly Elevated Liver Transaminase Levels: Causes and Evaluation. *American family physician*, 96(11), 709–715.
- Ohnishi, T., Suzuki, T., Suzuki, Y., & Ozawa, K. (1982). A comparative study of plasma membrane Mg²⁺ -ATPase activities in normal, regenerating and malignant cells. *Biochimica et biophysica acta*, 684(1), 67–74. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(82\)90050-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(82)90050-5)
- Oluah, N. S., Mgbenka, B. O., Nwani, C. D., Aguzie, I. O., Ngene, I. C., & Oluah, C. (2020). Tissue-specific changes in ca²⁺-atpase and na⁺/k⁺-atpase activities in freshwater african catfish clarias gariepinus juvenile exposed to oxadiazon. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 81(1). <https://doi.org/10.1186/s41936-020-00186-8>
- Pandey, N., Hoilat, G. J., & John, S. (2023). Liver Biopsy. In StatPearls. *StatPearls Publishing*.
- Pandolfi, F., Franza, L., Carusi, V., Altamura, S., Andriollo, G., & Nucera, E. (2020). Interleukin-6 in Rheumatoid Arthritis. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5238. <https://doi.org/10.3390/ijms21155238>
- Pari, L., & Prasath, A. (2008). Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats. *Chemico-biological interactions*, 173(2), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.02.010>
- Piaincini, L. D. S., Guiloski, I. C., de Assis, H. C. S., & Cestari, M. M. (2015). Mesotrione herbicide promotes biochemical changes and DNA damage in two fish species. *Toxicology reports*, 2, 1157–1163. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.08.007>

- Pineau, I., & Lacroix, S. (2007). Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved. *The Journal of comparative neurology*, 500(2), 267–285. <https://doi.org/10.1002/cne.21149>
- Pismarović, L., Jama-Rodzeńska, A., Kljak, K., Lazarević, B., & Šćepanović, M. (2022). Soil solution pH can affect the response of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to mesotrione residues. *Plant, Soil and Environment*, 68(5), 237-244. <https://doi.org/10.17221/40/2022-pse>
- Pivovarov, A. S., Calahorra, F., & Walker, R. J. (2018). Na⁺/K⁺-pump and neurotransmitter membrane receptors. *Invertebrate neuroscience: IN*, 19(1), 1. <https://doi.org/10.1007/s10158-018-0221-7>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 8416763. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Qi, L., Dong, Y. M., Chao, H., Zhao, P., Ma, S. L., & Li, G. (2023). Glyphosate based-herbicide disrupts energy metabolism and activates inflammatory response through oxidative stress in mice liver. *Chemosphere*, 315, 137751. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137751>
- Rafiee, S., Nouri, A., & Heidarian, E. (2023). Role of NF-κB/IL-1β Pathway and Caspase 3 in Mediating the Hepatoprotective Effect of Rutin against Paraquat-Induced Liver Toxicity in Male Rats. *Chemistry & biodiversity*, 20(4), e202200248. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200248>
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*, 2014, 761264. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
- Ramadori, G., Moriconi, F., Malik, I., & Dudas, J. (2008). Physiology and pathophysiology of liver inflammation, damage and repair. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 59 Suppl 1, 107–117.
- Recabarren, R., Zinovjev, K., Tuñón, I., & Alzate-Morales, J. (2020). How a second Mg²⁺ ion affects the phosphoryl-transfer mechanism in a protein kinase: a computational study. *ACS Catalysis*, 11(1), 169-183. <https://doi.org/10.1021/acscatal.0c03304>
- Reville, K., Crean, J. K., Vivers, S., Dransfield, I., & Godson, C. (2006). Lipoxin A4 redistributes myosin IIA and Cdc42 in macrophages: implications for phagocytosis of

- apoptotic leukocytes. *Journal of immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 176(3), 1878–1888. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.3.1878>
- Riedo, J., Wettstein, F. E., Rösch, A., Herzog, C., Banerjee, S., Büchi, L., Charles, R., Wächter, D., Martin-Laurent, F., Bucheli, T. D., Walder, F., & van der Heijden, M. G. A. (2021). Widespread Occurrence of Pesticides in Organically Managed Agricultural Soils-the Ghost of a Conventional Agricultural Past?. *Environmental science & technology*, 55(5), 2919–2928. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c06405>
- Rieg, C. E. H., Cattani, D., Napolini, N. F., Cenci, V. H., de Liz Oliveira Cavalli, V. L., Jacques, A. V., Nascimento, M. V. P. D. S., Dalmarco, E. M., De Moraes, A. C. R., Santos-Silva, M. C., Silva, F. R. M. B., Parisotto, E. B., & Zamoner, A. (2022). Perinatal exposure to a glyphosate pesticide formulation induces offspring liver damage. *Toxicology and applied pharmacology*, 454, 116245. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2022.116245>
- Riera, J., Matus, E., Matus, L., & Molino, J. (2022). Toxicity of commercial atrazine in *rattus norvegicus* organs as a function of concentration: histopathological, ultrastructural and hematological evaluation. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 94(2), e20201125. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220201125>
- Ritchie H., Roser, M. & Rosado, P. (2022) - "Pesticides". Published online at *OurWorldInData.org*. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/pesticides>'
- Roach, P. J., Skurat, A. V. & Harris, R. A. (2001) in *The Endocrine Pancreas and Regulation of Metabolism*, eds. Cherrington, A. D. & Jefferson, L. S. (Oxford Univ. Press, New York), pp. 609–647
- Robinson, M., Harmon, C., & O'Farrelly, C. (2016). Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cellular and Molecular Immunology*, 13(3), 267-276. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.3>
- Rodrigues, F., Lima, T., Barrese, T., & Cirqueira, C. (2022). A avaliação de colorações histoquímicas na pesquisa histopatológica de *helicobacter pylori*. <https://doi.org/10.53934/101031-2>
- Rosalki, S. B., & Foo, A. Y. (1984). Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clinical chemistry*, 30(7), 1182–1186.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. P. (2016). Chapter 18 - Digestive system III. Histology, a textbook and atlas: With correlated cell and molecular biology 7th ed. (622–639). *New York: Wolters Kluwer*.

- Rusiecki, J. A., De Roos, A., Lee, W. J., Dosemeci, M., Lubin, J. H., Hoppin, J. A., Blair, A., & Alavanja, M. C. (2004). Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(18), 1375–1382. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh264>
- Sati, H. (2023). Melatonin: a biomolecule for mitigating postharvest chilling injury in fruits and vegetables. *Crop Science*, 63(6), 3175-3197. <https://doi.org/10.1002/csc2.21126>
- Semren, T., Žunec, S., & Pizent, A. (2018). Oxidative stress in triazine pesticide toxicity: a review of the main biomarker findings. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 69(2), 109-125. <https://doi.org/10.2478/aiht-2018-69-3118>
- Serhan, C. N., & Savill, J. (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature immunology*, 6(12), 1191–1197. <https://doi.org/10.1038/ni1276>
- Shao, X. (2023). Nir-ii photothermal activation of trpv1 channels for intracellular magnesium regulation by porous pd@pt core-shell nanostructure to reverse tumor multidrug resistance. *Advanced Functional Materials*, 33(51). <https://doi.org/10.1002/adfm.202306585>
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., Setzer, W. N., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>
- Shinkai, M., Shinkai, T., Puri, P., & Stringer, M. D. (2006). Elevated expression of IL2 is associated with increased infiltration of CD8+ T cells in biliary atresia. *Journal of pediatric surgery*, 41(2), 300–305. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2005.11.044>
- Shiogiri, N. S., Paulino, M. G., Carraschi, S. P., Baraldi, F. G., da Cruz, C., & Fernandes, M. N. (2012). Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the Neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 34(2), 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.05.007>
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715–748. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>
- Silva, A. C. N. d., Deda, D. K., Róz, A. L. D., Prado, R. A., Carvalho, C. C., Viviani, V. R., ... & Leite, F. L. (2013). Nanobiosensors based on chemically modified afm probes: a useful tool for metsulfuron-methyl detection. *Sensors*, 13(2), 1477-1489. <https://doi.org/10.3390/s130201477>

- Simarmata, M., Sembiring, D., Chozin, M., & Murcitra, B. (2023). Application timing of premixed formulation of atrazine and mesotrione in no-tillage corn grown in sandy land. *Asian Journal of Plant Sciences*, 22(1), 97-103. <https://doi.org/10.3923/ajps.2023.97.103>
- Singh, M., Sandhir, R., & Kiran, R. (2008). Atrazine-induced alterations in rat erythrocyte membranes: ameliorating effect of vitamin e. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 22(5), 363-369. <https://doi.org/10.1002/jbt.20249>
- Si-Tayeb, K., Lemaigre, F. P., & Duncan, S. A. (2010). Organogenesis and development of the liver. *Developmental cell*, 18(2), 175–189. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.01.011>
- Solomon, K. R. (2019). Estimated exposure to glyphosate in humans via environmental, occupational, and dietary pathways: an updated review of the scientific literature. *Pest Management Science*, 76(9), 2878-2885. <https://doi.org/10.1002/ps.5717>
- Souza, A. C. F., Bastos, D. S. S., Santos, F. C., Sertorio, M. N., Ervilha, L. O. G., Gonçalves, R. V., de Oliveira, L. L., & Machado-Neves, M. (2018). Arsenic aggravates oxidative stress causing hepatic alterations and inflammation in diabetic rats. *Life sciences*, 209, 472–480. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.08.054>
- Srinivas, U., Tan, B., Vellayappan, B., & Jeyasekharan, A. (2019). Ros and the dna damage response in cancer. *Redox Biology*, 25, 101084. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>
- Srivastav, A. K., Dhiman, N., Tiwari, R., Arjaria, N., Prakash, J., Jagdale, P., Ayanur, A., Singh, D., Patnaik, S., & Kumar, M. (2019). Sub-acute oral exposure of zinc oxide nanoparticles causes alteration in iron homeostasis through acute phase response: A protective effect by surface modification. *Journal of trace elements in medicine and biology*, 52, 270–287. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.01.008>
- Stramer, B. M., Mori, R., & Martin, P. (2007). The inflammation-fibrosis link? A Jekyll and Hyde role for blood cells during wound repair. *The Journal of investigative dermatology*, 127(5), 1009–1017. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700811>
- Sun, Y., Gu, J., Liu, R., Zhou, H., Lu, L., Dai, X., & Qian, X. (2019). IL-2/IL-6 ratio correlates with liver function and recovery in acute liver injury patients. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 127(6), 468–474. <https://doi.org/10.1111/apm.12944>
- Supramaniam, A., Bielefeldt-Ohmann, H., Rudd, P., Webster, J., Ferro, V., & Herrero, L. (2019). Pg545 treatment reduces rrv-induced elevations of ast, alt with secondary

- lymphoid organ alterations in c57bl/6 mice. *Plos One*, 14(6), e0217998. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217998>
- Suwalsky, M., Benites, M., Villena, F., Aguilar, F., & Sotomayor, C. P. (1996). Interaction of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) with cell and model membranes. *Biochimica et biophysica acta*, 1285(2), 267–276. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(96\)00173-3](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(96)00173-3)
- Syafrudin, M., Kristanti, R. A., Yuniarto, A., Hadibarata, T., Rhee, J., Al-Onazi, W. A., Algarni, T. S., Almarri, A. H., & Al-Mohaimed, A. M. (2021). Pesticides in Drinking Water-A Review. *International journal of environmental research and public health*, 18(2), 468. <https://doi.org/10.3390/ijerph18020468>
- Syngenta. (2016). Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos: CALLISTO (Revisão 01). *Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.*
- Syngenta. (2022). Bula do herbicida CALARIS®. *Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.*
- Syngenta. (2023a). Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos: PROOF (Revisão 02). *Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.*
- Syngenta. (2023b). Bula CALLISTO. *Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.*
- Syngenta. (2024). Bula PROOF. *Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.*
- Szabo, G., Mandrekar, P., & Dolganiuc, A. (2007). Innate immune response and hepatic inflammation. *Seminars in liver disease*, 27(4), 339–350. <https://doi.org/10.1055/s-2007-991511>
- Torbenson, M., & Washington, K. (2020). Pathology of liver disease: advances in the last 50 years. *Human pathology*, 95, 78–98. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.08.023>
- Troudi, A., Ben Amara, I., Samet, A. M., & Zeghal, N. (2012). Oxidative stress induced by 2,4-phenoxyacetic acid in liver of female rats and their progeny: biochemical and histopathological studies. *Environmental toxicology*, 27(3), 137–145. <https://doi.org/10.1002/tox.20624>
- Tsikas, D., (2007). Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: Appraisal of the Griess reaction in the l-arginine/nitric oxide area of research. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 851(1–2), 51–70. Doi:10.1016/j.jchromb.2006.07.054
- Tussipkan, D. & Manabayeva, S. (2022). Alfalfa (medicago sativa l.): genotypic diversity and transgenic alfalfa for phytoremediation. *Frontiers in Environmental Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.828257>
- Ujowundu, C., Anaba, P., Ulinasombu, N., Ujowundu, F., Igwe, K., & Ogbuagu, H. (2020). Attenuation of paraquat-induced nephrotoxicity and dysfunction in male wistar albino

- rats. *Innovative Biosystems and Bioengineering*, 4(1), 26-35.
<https://doi.org/10.20535/ibb.2020.4.1.191259>
- Van Linthout, S., Miteva, K., & Tschöpe, C. (2014). Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells. *Cardiovascular research*, 102(2), 258–269.
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvu062>
- Vanasse, M., Rossignol, E., & Hadad, E. (2013). Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Pediatric Neurology Part II*, 1163-1169. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52910-7.00037-4>
- Vasconcelos, A. C. (2000). Patologia Geral em Hipertexto. *Universidade Federal de Minas Gerais*.
- Vasić, V., Momić, T., Petković, M., & Krstić, D. (2008). Na⁺,K⁺-ATPase as the Target Enzyme for Organic and Inorganic Compounds. *Sensors* (Basel, Switzerland), 8(12), 8321–8360.
<https://doi.org/10.3390/s8128321>
- Velli, S. & Devaki, T. (2020). Vanillic acid inhibits lung carcinogenesis by modulates glycoprotein abnormalities, membrane-bound enzymes, and inflammatory markers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 83-88.
<https://doi.org/10.22159/ijpps.2020v12i3.36607>
- Venditti, P. & Meo, S. (2020). The role of reactive oxygen species in the life cycle of the mitochondrion. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2173.
<https://doi.org/10.3390/ijms21062173>
- Wang, Z., Zou, L., Fan, B., & Peng, a. (2006). Abnormal metaphase cell division induced by microtubules depolymerization and photosystem ii inhibiting herbicides. *Cytologia*, 71(3), 289-295. <https://doi.org/10.1508/cytologia.71.289>
- Wang, S., Song, J., Yang, Y., Zhang, Y., Chawla, N. V., Ma, J., & Wang, H. (2017). Interaction between obesity and the Hypoxia Inducible Factor 3 Alpha Subunit rs3826795 polymorphism in relation with plasma alanine aminotransferase. *BMC medical genetics*, 18(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s12881-017-0437-0>
- Wang, C., Harwood, J. D., & Zhang, Q. (2018). Oxidative stress and DNA damage in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to the herbicide mesotrione. *Chemosphere*, 193, 1080–1086. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.14810.5005/jp-journals-11009-0123>
- Wang, W., Liang, Y., Yang, J., Tang, G., Zhou, Z., Tang, R., Dong, H., Li, J., & Cao, Y. (2019a). Ionic liquid forms of mesotrione with enhanced stability and reduced leaching

- risk. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(19), 16620-16628. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03948>
- Wang, M., Guckland, A., Murfitt, R., Ebeling, M., Sprenger, D., Foudoulakis, M. & Koutsaftis, A. (2019b). Relationship between magnitude of body weight effects and exposure duration in mammalian toxicology studies and implications for ecotoxicological risk assessment. *Environmental Sciences Europe*, 31(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0221-1>
- Wang, Y., Gao, W., Li, Y., Xiao, Y., Song, W., Yao, T., Cheng, M., Wang, W., & Hou, R. (2021). Establishment of a HPLC-MS/MS Detection Method for Glyphosate, Glufosinate-Ammonium, and Aminomethyl Phosphoric Acid in Tea and Its Use for Risk Exposure Assessment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 69(28), 7969–7978. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01757>
- Williams, M., Boerboom, C., & Rabaey, T. (2010). Significance of atrazine in sweet corn weed management systems. *Weed Technology*, 24(2), 139-142. <https://doi.org/10.1614/wt-d-09-00074.1>
- Wolfe, K. L., & Liu, R. H. (2007). Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(22), 8896–8907. <https://doi.org/10.1021/jf0715166>
- Woodward, E. A., Prêle, C. M., Nicholson, S. E., Kolesnik, T. B., & Hart, P. H. (2010). The anti-inflammatory effects of interleukin-4 are not mediated by suppressor of cytokine signalling-1 (SOCS1). *Immunology*, 131(1), 118–127. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03281.x>
- Xue, S., Zang, Y., Shang, S., Gao, L., & Tang, X. (2022). Ultraviolet-b radiation stress triggers reactive oxygen species and regulates the antioxidant defense and photosynthesis systems of intertidal red algae neoporphyra haitanensis. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1043462>
- Yamaguchi, Y., Honma, R., Yazaki, T., Shibuya, T., Sakaguchi, T., Uto-Kondo, H., & Kumagai, H. (2019). Sulfuric Odor Precursor S-Allyl-l-Cysteine Sulfoxide in Garlic Induces Detoxifying Enzymes and Prevents Hepatic Injury. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(9), 385. <https://doi.org/10.3390/antiox8090385>
- Yamazaki, H., Kamitani, T., Matsui, T., Yamamoto, Y., & Fukuhara, S. (2019). Association of low alanine aminotransferase with loss of independence or death: a 5-year population-based cohort study. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 34(10), 1793-1799. <https://doi.org/10.1111/jgh.14631>

- Yan, H., Jia, S., & Mao, P. (2020). Melatonin priming alleviates aging-induced germination inhibition by regulating β -oxidation, protein translation, and antioxidant metabolism in oat (*avena sativa* L.) seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1898. <https://doi.org/10.3390/ijms21051898>
- Zaller, J.G & Brühl, C.A (2019). Editorial: Non-target Effects of Pesticides on Organisms Inhabiting Agroecosystems EDITORIAL article *Front. Environ. Sci.*, 31 May 2019 Sec. Agroecology Volume 7 – 2019. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00075>
- Zhang, J. M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *International anesthesiology clinics*, 45(2), 27–37. <https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e>
- Zhang, C., Fennel, E. M. J., Douillet, C., & Stýblo, M. (2017). Exposures to arsenite and methylarsonite produce insulin resistance and impair insulin-dependent glycogen metabolism in hepatocytes. *Archives of toxicology*, 91(12), 3811–3821. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-2076-9>
- Zhang, C., Li, X. N., Xiang, L. R., Qin, L., Lin, J., & Li, J. L. (2017). Atrazine triggers hepatic oxidative stress and apoptosis in quails (*Coturnix C. coturnix*) via blocking Nrf2-mediated defense response. *Ecotoxicology and environmental safety*, 137, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.016>
- Zhang, H., Wang, X., Qian, M., & Jin, Y. (2022). Atrazine Exposure Induces Hepatic Metabolism Disorder in Male Adult Zebrafish. *Toxics*, 10(7), 400. <https://doi.org/10.3390/toxics10070400>
- Zhao, H., & Zhang, Q. (2021). Performance of electro-Fenton process coupling with microbial fuel cell for simultaneous removal of herbicide mesotrione. *Bioresource technology*, 319, 124244. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124244>