



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA – EFAR
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



**AVALIAÇÃO DO FÍGADO DE RATOS WISTAR EXPOSTOS DE FORMA AGUDA
AO HERBICIDA BIPYRIDÍLICO DIQUAT**

MARIANA CRISTINA DA SILVEIRA LESSA

Ouro Preto - MG

2022

MARIANA CRISTINA DA SILVEIRA LESSA

**AVALIAÇÃO DO FÍGADO DE RATOS WISTAR EXPOSTOS DE FORMA AGUDA
AO HERBICIDA BIPYRIDÍLICO DIQUAT**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP, como requisito da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC007) para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Dra. Katiane Oliveira Pinto Coelho Nogueira.

Coorientadora: Iara Mariana Léllis Ribeiro.

Ouro Preto - MG

2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

L638a Lessa, Mariana Cristina da Silveira.

Avaliação do fígado de ratos Wistar expostos de forma aguda ao herbicida bipiridílico Diquat. [manuscrito] / Mariana Cristina da Silveira Lessa. - 2022.

35 f.: il.: color., gráf..

Orientadora: Profa. Dra. Katiane Oliveira Pinto Coelho Nogueira.

Coorientadora: Profa. Dra. Iara Mariana Léllis Ribeiro.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Fígado - Doenças. 2. Herbicidas. 3. Diquat. I. Nogueira, Katiane Oliveira Pinto Coelho. II. Ribeiro, Iara Mariana Léllis. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 616.36

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Mariana Cristina da Silveira Lessa

Avaliação hepática de ratos Wistar expostos de forma aguda ao herbicida bipiridílico diquat

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutica

Aprovada em 21 de outubro de 2022

Membros da banca

Dra. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira - Orientador(a) Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Iára Mariana Léllis Ribeiro - Coorientadora - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais
Dr. Laser Antônio Machado Oliveira - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr. Orlando David Henrique dos Santos - Universidade Federal de Ouro Preto

Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 24/10/2022



Documento assinado eletronicamente por **Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 24/10/2022, às 10:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0415916** e o código CRC **6AE91EA7**.

AGRADECIMENTOS

À Deus e Nossa Senhora, por terem me abençoado e sustentado até aqui, me permitindo concluir mais esta etapa.

Aos meus pais Eliane e Jorge e meu irmão Matheus, por todo esforço, exemplo, incentivo e amor de sempre; por acreditarem em mim. Sem o apoio de vocês nada disso seria possível. Essa vitória é nossa!

Aos familiares e amigos pelas orações e palavras de encorajamento.

Ao meu namorado, Bruno, por todo incentivo, amor e por estar sempre ao meu lado.

Às minhas amigas, em especial Kênia e Thaila. As quais eu tive a honra de compartilhar os dias, as dificuldades, os estudos, as alegrias e a vida em Ouro Preto. Pela boa convivência durante todos estes anos. Tudo se tornou mais fácil com vocês.

À minha orientadora, Profa. Dra. Katiane de Oliveira Pinto Coelho Nogueira e Co-orientadora Iara Mariana Léllis Ribeiro, por sempre estarem dispostas em ajudar, com grande dedicação, paciência, carinho e aprendizado. Seus conhecimentos e sugestões foram determinantes para o resultado final alcançado.

À todos os amigos do Laboratório de Neurobiologia e Biomateriais (LNBio), pela amizade, união, colaboração e disposição em todo o processo de experimento. Principalmente ao Prof. Dr. Laser Antônio Machado Oliveira, Ana Sciandretti, Camila Santos e Andressa Cota por terem ajudado nos processos deste trabalho.

À banca examinadora, composta pelo Prof. Dr. Laser Antônio Machado Oliveira e pelo Prof. Dr. Orlando David Henrique dos Santos, por aceitarem o convite de participação na apresentação e defesa deste trabalho.

À Universidade Federal de Ouro Preto, em especial à gloriosa Escola de Farmácia, pela inestimável formação.

Por fim, à todos que direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista;

Gratidão!

RESUMO

Os herbicidas desempenham um importante papel na produção agrícola, porém seus efeitos tóxicos apresentam problemas relevantes no ecossistema e na saúde pública. O composto bupiridílico, Diquat (DQ) é um herbicida capaz de induzir desequilíbrio redox, uma vez que durante os ciclos redox, recebem elétrons do NADPH, principal coenzima redutora do organismo, agindo como formador de radicais livres. A exposição ocupacional e acidental da população a este herbicida gera toxicidade à órgãos como pulmão, rins, fígado e cérebro. Estudos demonstram que o DQ afeta gravemente o fígado, principal órgão responsável pela sua metabolização, com a presença de reações adversas que podem resultar na morte dos hepatócitos. Para avaliar os efeitos do DQ sobre o fígado, 12 ratos Wistar machos adultos foram divididos em 2 grupos de 6 animais. Nos animais do grupo controle foi administrada uma injeção de 100 µL de solução salina. Nos animais do grupo DQ foi administrada uma injeção intraperitoneal de 100 µL de DQ, na concentração de 0,1 mM/kg. Após 3 horas da administração da injeção os animais foram eutanasiados. Para as análises morfológicas, fragmentos de fígado foram fixados e processados para análise em microscopia óptica. As análises histopatológicas indicaram que alterações morfológicas ocorreram principalmente nas regiões centrolobulares, com grande degradação do tecido hepático e presença de infiltrados inflamatórios na região de tríade portal. Assim, pode-se concluir a partir das análises histomorfológicas, que é razoável inferir que a exposição ao DQ altera a citoarquitetura hepática de ratos Wistar adultos.

Palavras chave: Herbicida bupiridílico, Diquat, fígado, hepatotoxicidade, histomorfologia.

ABSTRACT

Herbicides play an important role in agricultural production, but their toxic effects pose relevant problems for the ecosystem and public health. The bipyridyl compound, Diquat (DQ) is a herbicide capable of inducing redox imbalance, since during redox cycles, they receive electrons from NADPH, the body's main reducing coenzyme, acting as a free radical former. Occupational and accidental exposure of the population to this herbicide generates toxicity to organs such as lungs, kidneys, liver and brain. Studies show that DQ severely affects the liver, the main organ responsible for its metabolism, with the presence of adverse reactions that can result in the death of hepatocytes. To evaluate the effects of DQ on the liver, 12 adult male Wistar rats were divided into 2 groups of 6 animals. The animals in the control group received an injection of 100 μ L of saline solution. The animals in the DQ group received an intraperitoneal injection of 100 μ L of DQ at a concentration of 0.1 mM/kg. After 3 hours of injection, the animals were euthanized. For morphological analysis, liver fragments were fixed and processed for analysis under optical microscopy. Histopathological analysis indicated that morphological alterations occurred mainly in the centrilobular regions, with great degradation of the hepatic tissue and the presence of inflammatory infiltrates in the portal triad region. Thus, it can be concluded from the histomorphological analysis, that it is reasonable to infer that exposure to DQ alters the hepatic cytoarchitecture of adult Wistar rats.

Keywords: Bipyridyl herbicide, Diquat, liver, hepatotoxicity, histomorphology.

LISTA DE FIGURA

FIGURA 1: Estrutura química do Diquat (1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylum)	11
FIGURA 2: Desenho esquemático da anatomia do fígado	13
FIGURA 3. Esquema mostrando os lobos hepáticos do fígado	14
FIGURA 4. Desenho esquemático de um lóbulo hepático	14
FIGURA 5. Desenho esquemático das reações de metabolização de fase I e II no fígado	16
FIGURA 6. Formação de ERO's em humanos e animais, responsáveis pela peroxidação lipídica e morte celular, através do ciclo redox do DQ	17
FIGURA 7. Desenho esquemático do estabelecimento do modelo de estudo e metodologia	21
FIGURA 8. Efeito do Diquat no fígado.	25
FIGURA 9. Índice hepatossomático	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

g – Gramas

kg – Quilo

µm – Micrômetro

mg – Miligramas

µL – Microlitros

® – Marca registrada

% – Porcentagem

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Asparatato aminotransferase

ATP – Adenosina trifosfato

CAT – Catalase

CCA – Centro de Ciência Animal

CEUA – Comitê de ética em pesquisa no uso de animais

Diquat – 1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylum

DQ – Diquat

ERO's – Espécies reativas de oxigênio

GGT – Gamaglutamiltranspeptidase

GHS – Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos

GL – Grau Lussac

GPx – Glutathione peroxidase

GR – Glutathione reductase

H⁺ – Hidrogênio

H₂O – Água

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

IHS – Índice hepatossomático

IL-18 – Interleucina-18

IL-1β – Interleucina-1β

L• – Radical peroxil

LD50 – Dose letal mediana

LDH – Lactato desidrogenase

LOOH –Hidroperóxido lipídico

MS – Ministério da Saúde

N – Número amostral

NAD⁺ – Nicotinamida adenina dinucleotídeo (oxidada)

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (reduzida)

O₂ – Oxigênio

O₂^{•-} – Ânion superóxido

OH⁻ – Hidroxila

OH[•] – Radical hidroxila

P.A. – Para análise

Paraquat – Dicloreto de 1,1-dimetil-4,4-bipirídio

pH – Potencial hidrogeniônico

PL – Peroxidação lipídica

PQ – Paraquat

SOD – Superóxido dismutase

Wf – Peso do fígado em gramas

Ws – Peso corporal em gramas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Utilidade e efeitos dos herbicidas	10
1.2 Diquat	10
1.3 Farmacocinética e Metabolismo do Diquat	12
1.4 Fígado	12
Anatomia e morfologia	12
Fisiologia	15
Hepatotoxicidade do Diquat	16
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Estabelecimento do modelo de estudo	21
3.2 Exposição dos animais	21
3.3 Processamento histológico	23
3.4 Análises histopatológicas	23
3.5 Índice Hepatossomático (IHS)	23
5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	28
6. REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

1.1 Utilidade e efeitos dos herbicidas

A agricultura contemporânea se caracteriza pela elevação do número de pesquisas agronômicas, pelo uso de novas técnicas, equipamentos e insumos, como agrotóxicos e fertilizantes (STOPPELLI e MAGALHÃES, 2005). Os agrotóxicos, também denominados de pesticidas ou praguicidas, são atualmente responsáveis pelo comércio de bilhões de dólares em todo o mundo (MOREIRA et al., 2002). Neste sentido, o Brasil se destaca por ser um dos maiores produtores agropecuários do mundo e o segundo país que mais exporta esses produtos, desempenhando um importante papel na economia nacional. Para manter tal produção, este setor utiliza intensivamente sementes transgênicas e insumos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos. A extensa área de plantio no Brasil proporcionou que o país fosse o maior consumidor desses produtos químicos no mundo, sendo que dentre estes agroquímicos, 45% são herbicidas (PEDLOWSKI et al., 2012; CARNEIRO et al., 2015).

Há quase 60 anos, os herbicidas se tornaram uma ferramenta indispensável para os agricultores nos países desenvolvidos (KRAEHMER, 2012). Sendo um tipo de agrotóxico que atua no controle de ervas daninha nas lavouras, que são indesejáveis, persistentes, prejudiciais e que interferem no crescimento de outras plantas cultivadas prejudicando a agricultura, os processos naturais e a economia (KRAEHMER, 2014; VATS, 2015). Porém, apesar de seus benefícios para a lavoura, esse método de controle de pragas muitas vezes é extremamente tóxico, gerando problemas relevantes à saúde pública, principalmente nos trabalhadores do campo (CASSAL et al., 2014; PEREIRA e CORRÊA, 2018). O uso indiscriminado dos agrotóxicos, a falta de cuidado na manipulação e estocagem, o consumo de alimentos e águas contaminados, além das pulverizações aéreas que ocasionam a dispersão dessas substâncias pelo meio ambiente podem contaminar a população, acarretando intoxicação e adoecimento humano (PEREIRA e CORRÊA, 2018; INCA, 2019).

1.2 Diquat

O Diquat (1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylium) é um herbicida bipyridílio, que possui uma molécula com estrutura de amônia quaternária polarizada, composta por anéis de piridina (dois anéis aromáticos nos quais um átomo de carbono é substituído por um átomo de nitrogênio) acoplado por uma ponte (CH₂)_n saturada (Fig. 1) (PARKASH, 1974; PIZZUTTI et al., 2016).

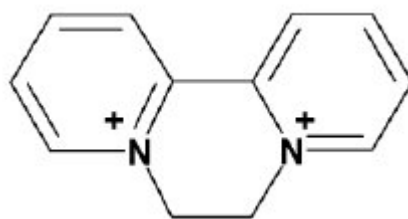


FIGURA 1: Estrutura química do Diquat (1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylium) (Fonte: Próprio autor).

Possui elevada solubilidade em água, sendo pouco solúvel em álcool e insolúvel em solventes orgânicos apolares. Se degrada rapidamente em pH acima de 9, rompendo um dos anéis de piridina pela absorção de uma única molécula de hidróxido de sódio (NaOH) (PARKASH, 1974; PIZZUTTI et al., 2016). Em solução aquosa, esse composto apresenta baixa volatilidade e inflamabilidade, não é explosivo, mas possui efeitos corrosivos (PARKASH, 1974; ROMAN et al., 2005; PIZZUTTI et al., 2016).

Apesar de estudos comprovarem que o Diquat (DQ) apresenta alta toxicidade humana e animal, com índice de mortalidade maior que 70% em humanos, o DQ desde 2019 é classificado na categoria 3, isto é, produtos moderadamente tóxicos, de acordo com o novo marco regulatório da ANVISA (RDC N° 294), (MAGALHÃES; CARVALHO; DINIS-OLIVEIRA, 2018; BRASIL, 2019). Devido à alta toxicidade, o DQ também é utilizado com intenção suicida, especialmente no Japão e em muitos países em desenvolvimento, por não existir nenhum antídoto específico nem tratamento médico adequado com capacidade de reduzir a elevada morbi-mortalidade (LOPES e MANSO, 1989; CALDAS, 2000; ROBERTS e ROUTT REIGART, 2013; SERRA; DOMINGOS; PRATA, 2014; FARIA, 2017). Sendo assim, a prevenção da mortalidade terá que se basear em estratégias preventivas ou na interrupção da absorção gastrointestinal logo após a ingestão do composto (ROBERTS e ROUTT REIGART, 2013).

A dose letal mediana (LD50) do DQ em humanos é de aproximadamente 4 mg/Kg (10 a 15 ml de uma solução a 20%), sendo a dose letal de tomada única, aproximadamente 20 ml da solução comercializada (SENARATHNA et al., 2009). Embora a absorção intestinal seja relativamente lenta, a absorção letal nos principais órgãos e tecidos parece ocorrer possivelmente dentro de 6 horas, após a ingestão de quantidades tóxicas de Diquat. Uma vez que a distribuição tecidual tenha ocorrido, as medidas para removê-lo da corrente sanguínea são consideradas ineficazes na redução da carga sistêmica (ROBERTS e ROUTT REIGART, 2013).

A confirmação de envenenamento por Diquat pode ser medida no sangue e na urina por métodos espectrofotométricos, cromatográficos gasosos, cromatográficos líquidos e radioimunoensaios (ROBERTS e ROUTH REIGART, 2013). Várias estratégias estão sendo testadas para reduzir a frequência dessas ocorrências, incluindo a adição de eméticos, substâncias gelificantes e agentes amargos, como denatônio sódico (ROBERTS e ROUTH REIGART, 2013).

1.3 Farmacocinética e Metabolismo do Diquat

No organismo humano, o DQ pode ser absorvido por via oral, pulmonar, ocular, contato dérmico e inalação (BALDWIN et al., 1975). Dentre essas vias, a de maior impacto é a gastrointestinal, e entre as menos significativas, está a absorção cutânea, especialmente através da pele íntegra, e a inalatória, que possui poucos efeitos sistêmicos, mas pode causar irritação da nasofaringe (BALDWIN et al., 1975; CHARLES et al. 1978).

Uma vez no organismo, o DQ é capaz de atravessar a membrana celular por difusão, ou por transporte ativo via bombas catiônicas (BALDWIN et al., 1975). Depois de absorvido, ocorre rápida distribuição pelo organismo. Dentre os órgãos afetados, os que mais apresentaram resíduos após dosagem foram os rins, pulmões e o trato gastrointestinal (BALDWIN et al., 1975; JONES e VALE, 2000).

Em estudo anatomopatológico *postmortem* o DQ possui baixas concentrações teciduais, com exceção do líquido biliar, sugerindo que a captação biliar contribui para a diminuição da concentração sérica e tecidual após a ingestão (FARIA, 2017). A metabolização do DQ ocorre principalmente no fígado por meio das enzimas do citocromo P-450 (GALLAGHER et al. 1995; FARIA, 2017). Decorrendo por meio da oxidação dos anéis de piridina em derivados de mono e dipiridona, produzindo os metabólitos TOPPS (1-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrido[1,2-a]pyrazin-5-ium), que é em seguida decomposto em picolinamida e ácido picolínico (BALDWIN et al., 1975; JONES e VALE, 2000). Quando a administração do herbicida é por via oral, a excreção biliar é predominante, ultrapassando 90% e sendo menos de 10% pelo rim (DANIEL et al. 1966; FARIA, 2017).

1.4 Fígado

Anatomia e morfologia

O fígado é uma glândula que constitui de 2 a 5% do peso corporal em um indivíduo adulto (BANKS, 1986). Situado no quadrante superior direito da cavidade abdominal, é

dividido em quatro lobos (o esquerdo, o direito, o quadrado e o caudado) com a sua região superior e arredondada inserida no domo do diafragma (BUZATO et al., 2016) (Fig. 2).

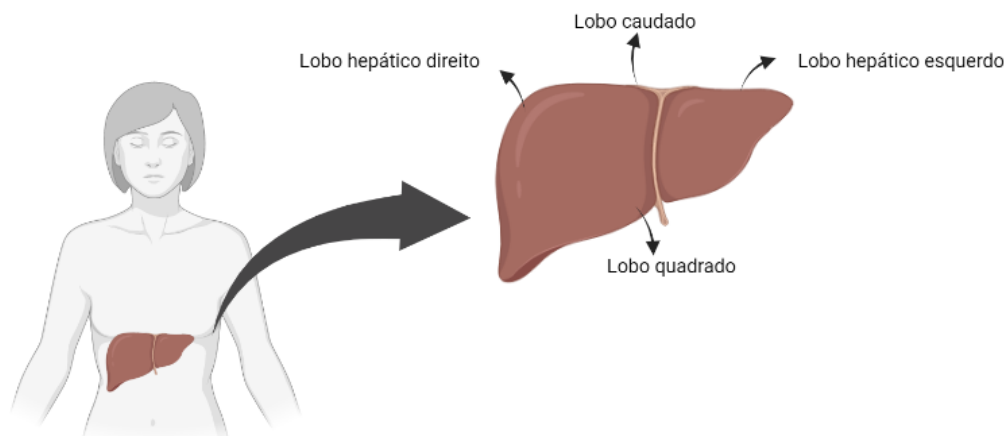


FIGURA 2: Desenho esquemático da anatomia do fígado. Figura criada utilizando o programa *Bio Render* (Fonte: Próprio autor).

O fígado é revestido por uma cápsula de tecido conjuntivo, conhecida como cápsula de Glisson (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Estruturalmente é constituído por células hepáticas de origem epitelial, também chamadas de hepatócitos, que se organizam em cordões convergentes para uma veia centrolobular de sua unidade estrutural, o lóbulo hepático (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Entre os cordões de hepatócitos estão dispostos os capilares sinusóides, que são vasos irregularmente dilatados compostos por uma camada descontínua de células endoteliais fenestradas, envoltos por fibras reticulares. Cerceando os capilares sinusóides estão presentes macrófagos, chamados de células de Kupffer, que desempenham funções principalmente fagocíticas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013) (Fig. 3).

A vascularização hepática é um elemento da maior importância para garantir a multiplicidade funcional do órgão. Situado no sistema circulatório recebendo um suprimento sanguíneo duplo, onde além de receber cerca de 20% do fluxo sanguíneo arterial através da artéria hepática, recebe cerca de 80% do seu sangue através da veia porta hepática, de modo que quase todo o sangue oriundo do sistema digestório e do baço drena para o fígado. O fígado humano contém em média 5 espaços porta por lóbulo, localizados nas regiões periféricas, cada um contendo um ramo da veia porta, um ramo da artéria hepática, ductos

biliares e vasos linfáticos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; BUZATO et al., 2016) (Fig. 4).

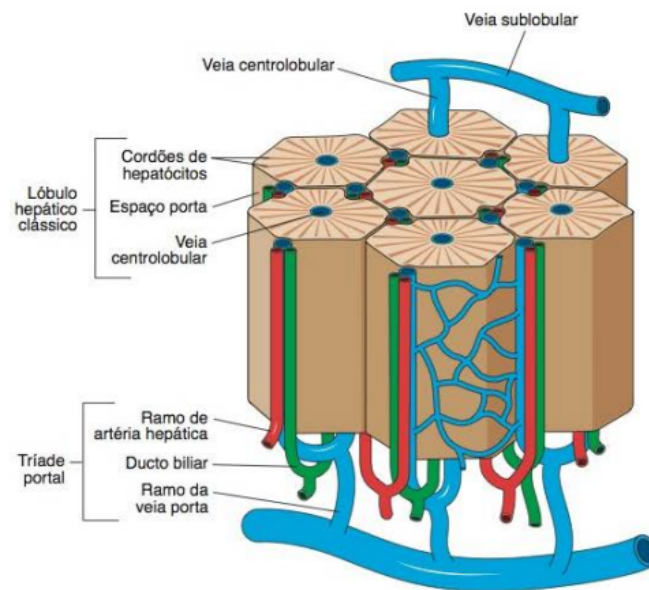


FIGURA 3. Esquema mostrando os lobos hepáticos do fígado. Cada lobo consiste em cordões de hepatócitos intercalados com capilares sinusoidais (não mostrados nesta figura) que drenam para a veia central do lóbulo. Na periferia do lóbulo há tecido conjuntivo, no qual está o espaço portal, que contém arteríolas, vênulas e ductos biliares, conhecido como triade portal. Existem também vasos linfáticos e nervos (não mostrados) (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

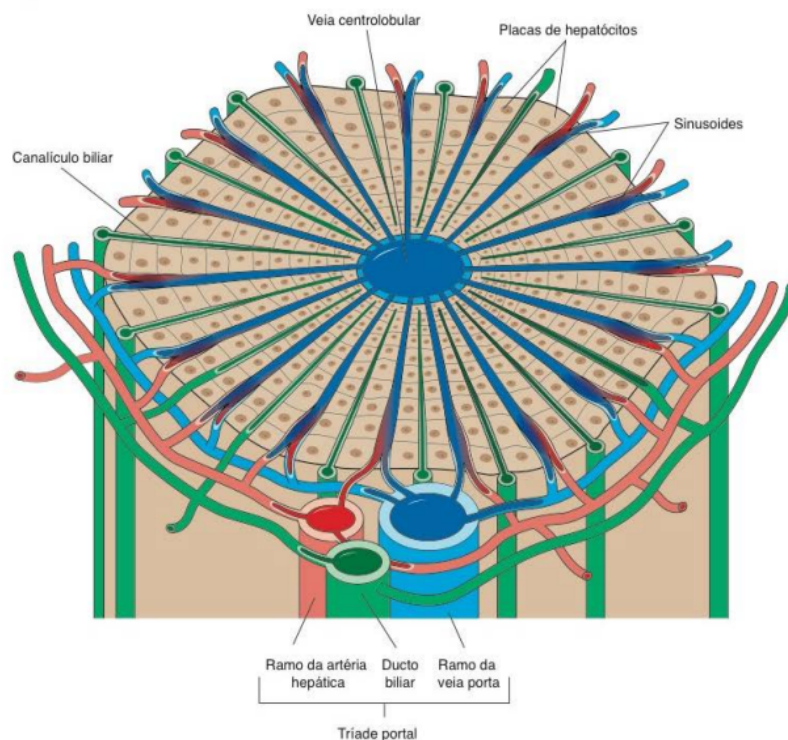


FIGURA 4. Desenho esquemático de um lóbulo hepático. O espaço porta está localizado na periferia, e o sangue flui das arteríolas e vênulas para os sinusoides, que desembocam na veia centrolobular. Cordões de hepatócitos se organizam em cordões convergentes para uma veia centrolobular (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

Fisiologia

Bioquimicamente o fígado desempenha um papel essencial na homeostase do corpo através do número incontável de funções que executa. Sendo a secreção de bile a principal função digestiva do fígado, mas também, o fígado é essencial na regulação do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios, nos processos metabólicos como glicólise e gliconeogênese, no armazenamento de substâncias, síntese de vitaminas, degradação e excreção de hormônios (GENESER, 2001; SCHINONI, 2006; BUZATO et al., 2016). Outras funções também estão interligadas e correlacionadas, tendo uma grande diversidade funcional, por exemplo, o processo de transporte, a hemostasia, o auxílio à resposta imune, e durante o desenvolvimento embrionário, função hematopoiética (GENESER, 2001; SCHINONI, 2006; BUZATO et al., 2016).

Destaca-se uma função extremamente importante do fígado, o metabolismo e degradação de fármacos e toxinas, que geralmente são convertidos em formas inativas por reações que ocorrem nos hepatócitos. Alguns fármacos são inativados por ação hepática, enquanto outros são ativados ou convertidos em produtos tóxicos por transformação hepática. Os fármacos são normalmente metabolizados no fígado (estágios I e II), principalmente no

retículo endoplasmático liso dos hepatócitos. Para a maioria das drogas, a reação de fase I é uma reação de oxidação catalisada pelo citocromo P-450, citocromo b5 e NADPH citocromo c redutase. Reação importante de fase II é a conjugação com glicuronidação tendo a formação de glicuronídeos. Por meio dessas transformações, o fármaco torna-se mais solúvel e tende a ser excretado pelos rins ou diretamente pela bile (Fig.5) (SCHINONI, 2006; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

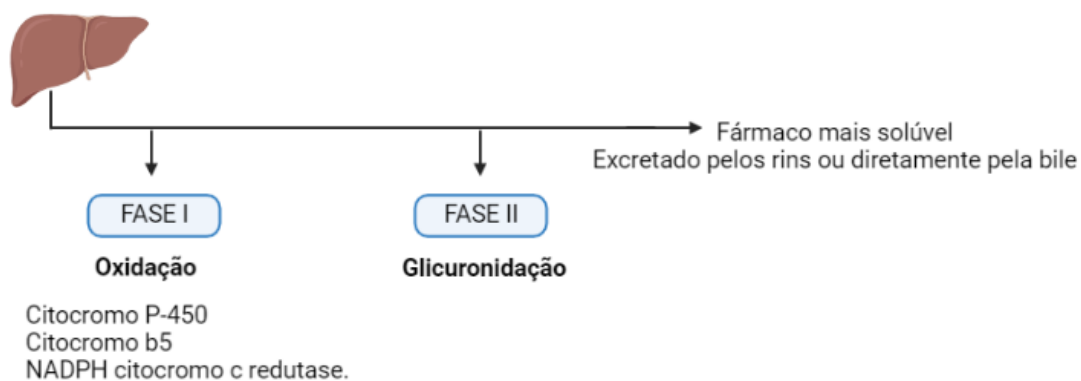


FIGURA 5. Desenho esquemático das reações de metabolização de fase I e II no fígado. Figura criada utilizando o programa *Bio Render* (Fonte: Próprio autor).

Hepatotoxicidade do Diquat

Lesões hepáticas induzidas por drogas constituem uma potencial complicação de qualquer tratamento medicamentoso, uma vez que o fígado é o órgão central de disposição metabólica de praticamente todas as drogas e xenobióticos (ZIMMERMAN e MADDRE, 1993). Muitos xenobióticos são eliminados pelo fígado, principalmente na forma de conjugados, sem maiores consequências. No entanto, alguns são concentrados a níveis tóxicos, enquanto outros são bioativados a compostos intermediários reativos que podem lesar o fígado (KULKARNI e BYCZKOWSKI, 1994). Essas lesões resultam do efeito de droga e/ou produto de biotransformação provocando disfunção intracelular pela ruptura da integridade dos diversos sistemas de membrana dos hepatócitos ou indiretamente através dos danos celulares provocados por processos imunológicos (LEE, 1995).

Sendo o hepatócito a principal unidade metabólica do fígado, muitas reações adversas podem resultar na sua morte. A reação mais comum conduzindo à morte celular é a formação de ligações covalentes entre o metabólito reativo e macromoléculas biológicas. Reações de oxidação também podem produzir compostos eletrofílicos ou espécies reativas de oxigênio

(EROs) que reagem com componentes celulares (RECKNAGEL; GLENDE; BRITTON, 1991).

Radicais livres são formados durante os processos fisiológicos do organismo (NIMSE e PAL, 2015; MANOHARAN et al., 2016). Contudo, em grandes quantidades de EROs, os mecanismos de proteção antioxidantes da própria célula ficam sobrecarregados e as enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) e outros antioxidantes (Vitamina C e E, glutathione, selênio, tioredoxina, selênio) não são capazes de dissipar todas as radicais resultando em estresse oxidativo (SLAUGHTER; THAKKAR; O'BRIEN, 2002; XU et al, 2007; DJUKIC 2012, NIMSE e PAL, 2015). As proteínas mais sensíveis são aquelas que possuem grupamento sulfidril em sua estrutura. A modificação na estrutura dessas proteínas pelo estresse oxidativo geralmente é acompanhada da alteração de várias funções celulares, resultando em inibição do metabolismo do fosfoinosítídeo, quebra da homeostase intracelular do cálcio e comprometimento do citoesqueleto normal da célula. Esse último efeito pode ser o responsável pela invaginação da membrana plasmática observada em células expostas a concentrações citotóxicas de pró-oxidantes (OLIVER, et al., 1990).

O DQ é um composto capaz de induzir o estresse oxidativo, uma vez que durante os ciclos redox, moléculas de herbicida recebem elétrons do NADPH, principal coenzima redutora do organismo (SANDY et al., 1986; LOPES e MANSO, 1989; JONES e VALE, 2000). A reação é catalisada pela enzima Citocromo P450 redutase NADPH-dependente interferindo com o sistema de transporte intracelular de elétrons. Logo os elétrons são transferidos ao oxigênio (O_2), que são facilmente reduzidos, formando continuamente grandes quantidades de ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$). A formação de ânion superóxido inibe a enzima fosforibosilquinolato transferase, responsável pela biossíntese de NAD^+ , principal molécula aceptora de elétrons na respiração celular (SANDY et al., 1986; LOPES e MANSO, 1989; JONES e VALE, 2000).

O radical superóxido é neutralizado pela superóxido dismutase (SOD), formando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (SANDY et al., 1986; NIKI et al., 2005; GASCHLER; STOCKWELL, 2017). Tanto no ciclo de oxidação-redução contínua das formas oxidada e reduzida do DQ, quanto a desintoxicação do peróxido de hidrogênio via glutathione dependem da coenzima NADPH (SANDY et al., 1986; LOPES e MANSO, 1989; CALDAS, 2000). Esses ciclos viciosos de oxidação-redução de suas moléculas é o principal mecanismo de toxicidade do DQ em humanos e animais (JONES e VALE, 2000; SLAUGHTER;

THAKKAR; O'BRIEN, 2002). Além disso, na presença de metais o $O_2^{\cdot-}$ e o H_2O_2 podem reagir formando radicais hidroxila ($OH^{\cdot}$), que são EROs, consideradas responsáveis pela peroxidação lipídica e morte celular (NIKI et al., 2005; GASCHLER e STOCKWELL, 2017).

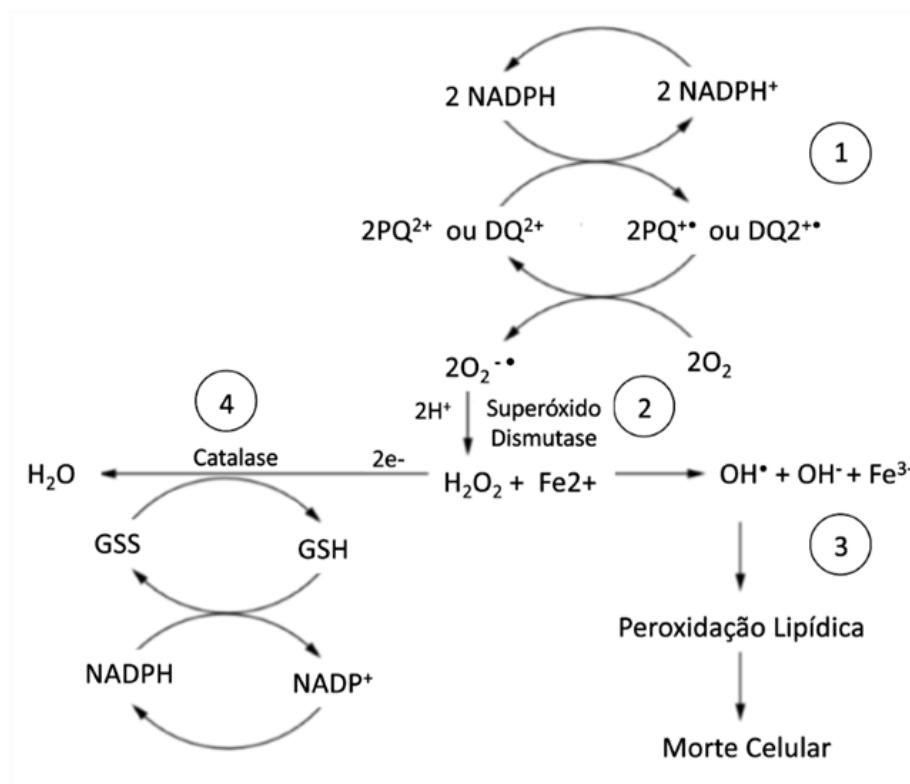


FIGURA 6. Formação de ERO's em humanos e animais, responsáveis pela peroxidação lipídica e morte celular, através do ciclo redox do DQ (Adaptado de LOPES e MANSO, 1989).

A peroxidação lipídica das membranas celulares ocorre principalmente porque os $OH^{\cdot}$ sequestram os hidrogênios (H^+) presentes nos ácidos graxos poli-insaturados, danificando a membrana e gerando radicais peroxil ($L^{\cdot}$), que também são capazes de sequestrar o H^+ de outros ácidos graxos e produzir hidroperóxidos lipídicos ($LOOH$), gerando assim uma reação contínua de peroxidação lipídica (PL) (NIKI et al., 2005; GASCHLER e STOCKWELL, 2017). A PL diminui a fluidez e aumenta a permeabilidade da bicamada lipídica, inativa receptores ligados à membrana, interrompem a função celular normal, e seus produtos podem induzir mutações no DNA (NIKI et al., 2005; NIMSE e PAL, 2015; GASCHLER e STOCKWELL, 2017). Em consequência, pode ocorrer morte celular pela ruptura da membrana e/ou pela interrupção de metabolismo intracelular normal, e como consequência, causar a necrose dos tecidos (NIKI et al., 2005; XU et al, 2007; GASCHLER e STOCKWELL, 2017; RIBEIRO et al., 2020).

A formação de radicais livres responsáveis pela peroxidação lipídica e citotoxicidade, promovida pelo ciclo redox alimentado pelo Diquat, ocorre predominantemente no fígado, pulmão, rins e córnea, da qual advêm os efeitos deletérios nestes órgãos alvo (SAND et al 1987; RIKANS et al. 1993). Alterações na função hepática como elevações nas transaminases, fosfatase alcalina e LDH, refletem lesão hepática, que pode evoluir para necrose centrolobular (FARIA, 2017). Alguns dos sintomas de hepatotoxicidade por DQ é a hiperbilirrubinemia que pode acompanhar a icterícia (FARIA, 2017).

Além das alterações bioquímicas e sintomatológicas, alterações histológicas em tecidos constituem ferramentas sensíveis para detectar os efeitos tóxicos diretos de compostos químicos em órgãos de desintoxicação e, portanto, são indicadores de efeitos colaterais desencadeados por diferentes abordagens terapêuticas. A histopatológica traduz a lesão integrada em função da duração e da intensidade da exposição ao composto e a capacidade adaptativa de um determinado tecido (ZUZMA-KOZAKIEWICZ, et al., 2013). Assim, efeitos tóxicos podem ser evidentes em células e tecidos, antes que mudanças significativas no comportamento possam ser identificadas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar o efeito do herbicida bupiridílico Diquat no fígado de ratos Wistar.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar possíveis alterações morfológicas no tecido hepático de ratos Wistar expostos ao Diquat, quanto a presença de alterações celulares e desorganização tecidual.
- Analisar possíveis alterações morfológicas no tecido hepático de ratos Wistar expostos ao Diquat, quanto à presença de processos inflamatórios e congestão vascular.
- Avaliar o índice hepatossomático de ratos Wistar expostos ao Diquat, comparando-o com o controle.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Estabelecimento do modelo de estudo

No presente trabalho foram utilizados 12 ratos Wistar machos, adultos entre 6-8 semanas, pesando entre 250 e 300g, provenientes do Centro de Ciência Animal (CCA) da Universidade Federal de Ouro Preto, sob o protocolo de número 6301140519, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma instituição. Os animais foram aclimatados em caixas de polietileno (41 x 34 x 21) forradas com maravalha, sob condições de livre acesso a água e ração (comercializada como Nuvilab) e ciclo claro-escuro de 12 horas.

3.2 Exposição dos animais

Para este estudo os animais foram separados em dois grupos, com seis animais compondo o grupo controle e seis compondo o grupo exposto ao composto bipiridílico Diquat (DQ), comercializado como Reglone® (Syngenta). Ao grupo controle foi administrada uma dose intraperitoneal de 100 µL de solução salina. O mesmo foi feito para cada animal do grupo exposto que, no entanto, recebeu uma dose intraperitoneal de 100 µL (1,2mg) de Diquat, na concentração de 0,1 mMol/kg, sendo uma dose muito inferior à dose letal de tomada única da solução comercializada de DQ (SENARATHNA et al., 2009; LU et al., 2010; HIGUCHI et al., 2011b).

Passadas 3 horas após a injeção, os animais foram anestesiados com isoflurano e eutanasiados por decapitação. O fígado foi coletado, isolado, pesado e fixado em formaldeído (10%) para análises histológicas, como esquematizado na Fig. 3.

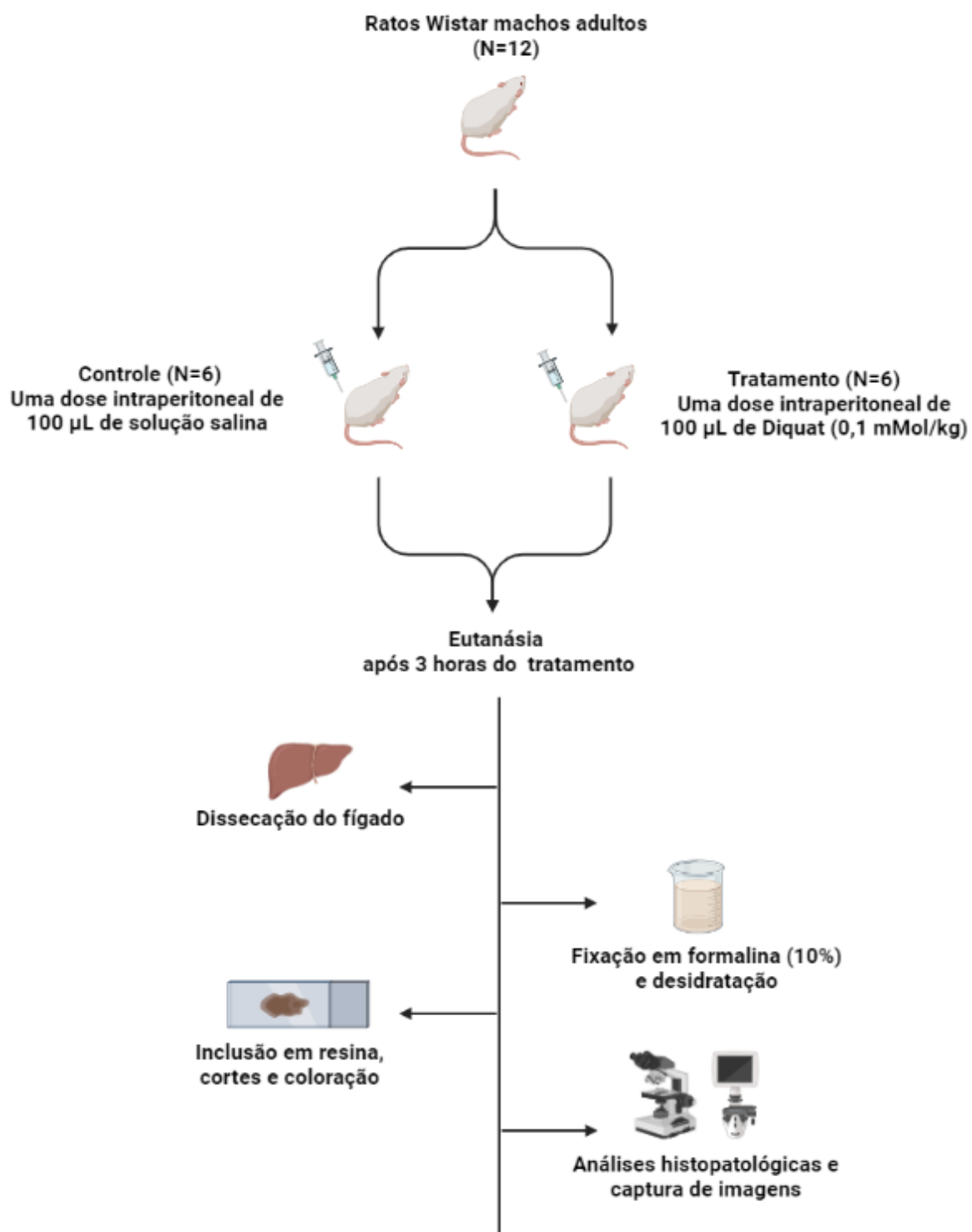


FIGURA 7. Desenho esquemático do estabelecimento do modelo de estudo e metodologia. Figura criada utilizando o programa *Bio Render* (Fonte: Próprio autor).

3.3 Processamento histológico

Para avaliar os efeitos do tratamento com Diquat no tecido hepático de ratos Wistar, o fígado foi isolado e lavado com solução fisiológica. Os fragmentos do fígado foram então fixados em formaldeído (10%). Após 48h, o material foi desidratado em concentrações crescentes de álcoois (70°, 80°, 95° e 100° GL) com trocas a cada trinta minutos entre as concentrações. Após a desidratação, os fragmentos foram incluídos em resina de glicolmetacrilato (Historesin®, Leica), sendo posteriormente seccionados de modo semi-seriado, na espessura de 3 µm. Oito cortes foram posicionados em cada lâmina e corados com o corante Azul de Toluidina P.A. 1% (Biotec®). As lâminas foram montadas com meio de montagem sintético para histologia Erv-Mount (EasyPath®) e analisadas em microscópio óptico CX31 (Olympus®).

3.4 Análises histopatológicas

As análises histopatológicas avaliaram a integridade do fígado, além de verificar alterações morfológicas como células vacuolizadas, esteatose, desorganização tecidual, processos inflamatórios e núcleos picnóticos. Para a realização das análises foram selecionadas cinco lâminas de fígado por animal de cada grupo e foram analisadas seis seções em cada lâmina para avaliação de danos hepáticos. O sistema de captura de imagem foi realizado por câmera digital (AmScope™ MU300) acoplada ao microscópio CX31 (Olympus®) e a um computador, utilizando o programa AmScope v4.11.17864.

3.5 Índice Hepatossomático (IHS)

Para calcular o índice hepatossomático (IHS) utilizou-se a seguinte expressão, de acordo com Vazzoler, 1981 (60):

$$\text{IHS} = (\text{Wf} / \text{Ws}) \times 100$$

Onde: Wf = peso do fígado em gramas / Ws = peso corporal em gramas

Os valores foram inseridos no software GraphPad Prism versão 5.0 para obtenção dos dados estatísticos e dos gráficos representativos. Os grupos foram comparados pelo teste *t student* e as diferenças foram consideradas significativas para o valor de $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fígado é a fonte de antioxidantes intrínsecos que desempenham um papel importante no metabolismo enzimático e na desintoxicação, sendo considerado um dos principais alvos do Diquat (DQ) (AHMAD; SHUKLA; KUMAR et al., 2013; FARIA, 2017). Assim, o parênquima do órgão foi avaliado quanto às alterações histopatológicas.

O exame microscópico das secções do tecido hepático de animais do grupo controle, tratados somente com salina, mostrou a arquitetura do parênquima hepático bem característica (Fig. 8A). Os hepatócitos apresentaram-se enfileirados, organizados radialmente às veias centro-lobulares, com citoplasma bem preservado e núcleo proeminente (Fig. 8A). Por outro lado, nas análises das secções do tecido hepático dos grupos expostos ao DQ, pode-se observar algumas alterações características de lesão hepática, como cariólise de hepatócitos, presença de vacuolização citoplasmática, cordões celulares hepáticos dispostos em desordem com degeneração celular, e perda da visualização dos limites celulares (Fig. 8B e 8C). Esses achados corroboram estudos anteriores que mostraram a hepatotoxicidade induzida por DQ em leitões desmamados e ratos com deficiência de selênio (ATKINSON et al., 2001; HUA et al., 2022). Hua et al. (2022) e Kai Connie Wu, et al. (2012) também observaram a lesão hepática induzida por DQ através da avaliação de enzimas transaminases, consideradas indicadores sensíveis para medir a função hepática, concomitante com áreas necrosadas de hepatócitos em torno das veias centrais dos lóbulos hepáticos.

Ao avaliar especificamente a região centrolobular, observamos no grupo controle uma aparência dentro de parâmetros considerados normais (Fig. 8A). Por outro lado, o grupo exposto ao DQ, apontou congestão sinusoidal e na veia centrolobular (Fig. 8B e 8C). Esses achados vão de encontro a outros estudos que mostram que a exposição ao DQ acarreta congestão nas veias centro lobulares e alterações na arquitetura dos hepatócitos na região central dos lóbulos (ATKINSON et al., 2001; ROGERS et al., 2006; WU; ZHANG; KLAASSEN, 2012). Mais especificamente, outros estudos mostraram ainda que o DQ causa lesão hepática em ratos com deficiência de selênio na região centrolobular com evidência ultraestrutural de lesão de células endoteliais, precedendo evidência de lesão de hepatócitos (ATKINSON et al., 2001).

Burk et al. (1980) descreveu a congestão hepática e a incapacidade de coagulação do sangue em um estudo com animais deficientes de selênio que sobreviveram por várias horas após a exposição ao DQ. Segundo ATKINSON et al. (2001), estas manifestações podem ser

explicadas pela perda de células endoteliais na região centrolobular que irá expor superfícies que ativam a coagulação do sangue, levando à depleção dos fatores de coagulação. Também aumenta a resistência dos sinusóides ao fluxo sanguíneo, fazendo com que o fígado inche e fique congestionado (ATKINSON et al., 2001). Assim, as lesões observadas nesse estudo são possivelmente atribuídas à exposição ao DQ, mesmo em animais sem deficiência nutricional.

Observou-se ainda, no grupo exposto ao DQ danos celulares com infiltrado inflamatório na região da tríade portal (Fig. 8D). Após intensa busca na literatura, não foram encontrados estudos que apontem lesão por influência do DQ e processo inflamatório especificamente na região portal. Entretanto, alguns estudos observaram a histologia hepática com infiltração de linfócitos em animais expostos ao PQT, composto bipiridílio, análogo ao DQ (AMIRSHAHROKHI e BOHLOOLI, 2013; HAN et al., 2014; LIU et al., 2020). Estudos anteriores relatados por LIU et al., (2020), mostraram que a administração de paraquat (PQT) ativa o inflamassoma NLRP3 e o fator pró inflamatório (IL-1 β e IL-18) no fígado de ratos, sendo notável o grande número de leucócitos recrutados para o tecido hepático em resposta ao tratamento.

Sabe-se que o estresse oxidativo é considerado um importante condutor da ativação do inflamassoma NLRP3, que medeia a resposta inflamatória a vários sinais exógenos e endógenos, incluindo toxinas bacterianas, ATP e EROs (MARIATHASAN et al., 2004). Uma vez que o inflamassoma NLRP3 é ativado, a interleucina-1 β (IL-1 β) e a interleucina-18 (IL-18) são clivadas pela caspase-1 para serem liberadas na forma ativa (IL-1 β e IL-18) amplificando assim a resposta inflamatória (DOSTERT et al., 2008).

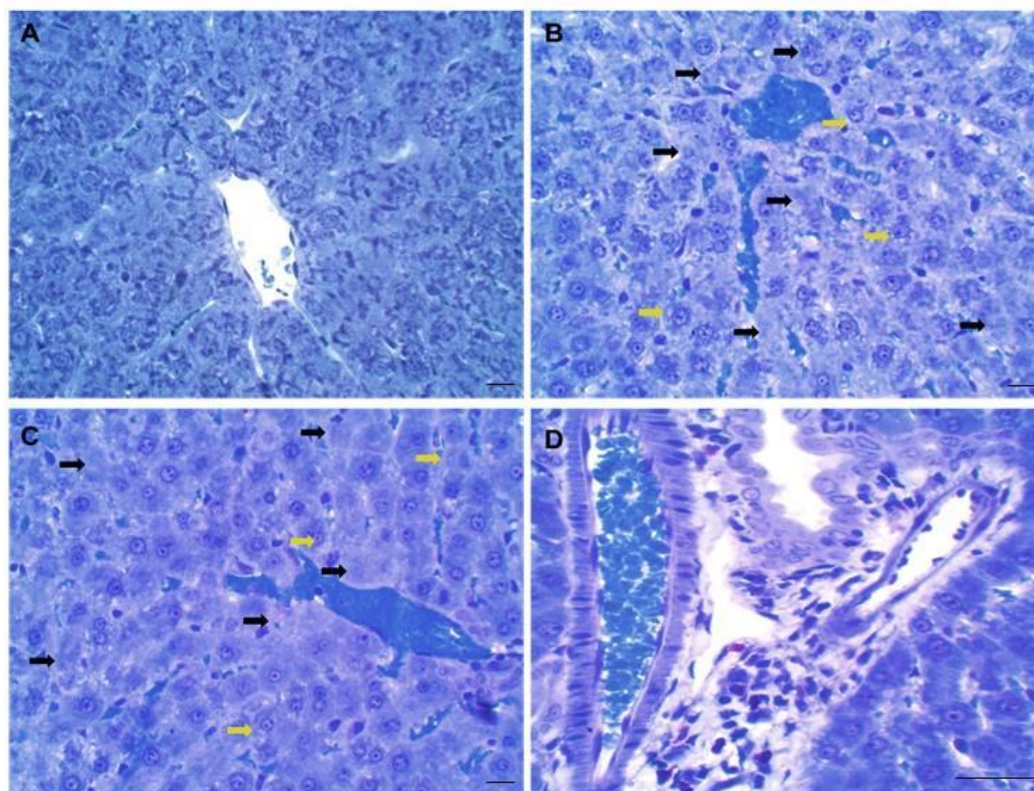


FIGURA 8. Efeito do Diquat no fígado. Coloração - Azul de toluidina. Controle (salina) ampliação de 400x (A); DQ (0,1 mMol/kg) ampliação de 400x (B e C); DQ (0,1 mMol/kg) ampliação de 1000x (D). No fígado do grupo tratado com DQ observa-se degeneração celular (setas pretas), hepatócitos com vacuolização (setas amarelas), veias centrais e capilares sinusoides congestionados e infiltrado inflamatório na tríade portal.

Outro parâmetro utilizado para avaliar o dano hepático causado por agentes tóxicos é a avaliação do índice hepatossomático. Esse índice atua como indicador do bem-estar geral do organismo (KORTEKAMP, 2011). Apesar de diferenças morfológicas terem sido observadas, o índice hepatossomático (Fig. 9), não apresentou diferença estatística entre o grupo exposto ao DQ e o grupo controle durante a exposição aguda executada. Resultados semelhantes foram obtidos por Nwani et al. (2015) que não observaram diferença significativa no índice hepatossomático em peixes expostos ao análogo PQT, por 1 e 5 dias. No entanto, um declínio significativo deste índice foi observado por esses pesquisadores após 10 dias de exposição a 2,75 mg/L de PQT. Assim, é possível que os resultados encontrados para o índice hepatossomático no presente trabalho estejam diretamente associados ao tempo de tratamento executado.

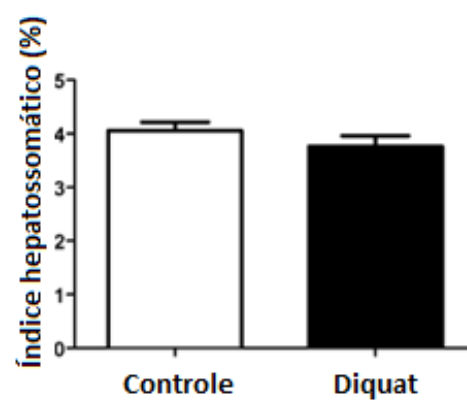


FIGURA 9. Índice hepatossomático. A Significância estatística foi avaliada pelo teste t student ($p \leq 0.05$). Barras representam média $\pm$ SEM. Controle (salina).

5. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A partir das análises histopatológicas realizadas neste estudo, foi observado que a administração aguda do DQ por via intraperitoneal, desencadeia alterações morfológicas no fígado. Assim, a utilização do DQ como modelo indutor de toxicidade hepática em ratos possibilita o desenvolvimento de estudos que associam tratamentos antioxidantes ao herbicida na tentativa de desenvolver novos tratamentos para intoxicação pelo mesmo.

6. REFERÊNCIAS

A

AHMAD, I.; SHUKLA, S.; KUMAR, A.; et al. “Biochemical and molecular mechanisms of N -acetyl cysteine and silymarin- mediated protection against maneb- and paraquat-induced hepatotoxicity in rats,” **Chemico-Biological Interactions**, vol. 201, no. 1-3, pp. 9–18. 2013.

AMIRSHAHROKHI, K.; BOHLOOLI, S. Effect of Methylsulfonylmethane on Paraquat-Induced Acute Lung and Liver Injury in Mice. **Inflammation**, v. 36, n. 5, p. 1111-1121. 2013.

ANVISA. **Consulta Pública nº 857, de 7 de julho de 2020**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2020. Disponível em: <http://www.aenda.org.br/wp-content/uploads/2020/08/cir0811-anexo-cp-857_dibrometo-de-diquate.pdf>. Acesso em: 12 de maio de 2022.

ANVISA. **Listas de ingredientes ativos com uso autorizado e banidos no Brasil**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2017. Disponível em: <[Listas de ingredientes ativos com uso autorizado e banidos no Brasil — Português \(Brasil\) \(www.gov.br\)](http://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/ingredientes-ativos/listas-de-ingredientes-ativos-com-uso-autorizado-e-banidos-no-brasil)>. Acesso em: 12 de maio de 2022

ANVISA. **RESOLUÇÃO-RDC Nº 347, DE 16 DE DEZEMBRO DE 2002**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2002. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0347_16_12_2002.html>. Acesso em: 12 de maio de 2022.

ATKINSON, J., HILL, K. & BURK, R. Centrilobular Endothelial Cell Injury by Diquat in the Selenium-Deficient Rat Liver. **Lab Invest** 81, 193–200 (2001). <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780227>.

B

BALDWIN et al. The rates of radical formation from the dipyridylum herbicides paraquat, diquat, and morfamquat in homogenates of rat lung, kidney, and liver: an inhibitory effect of carbon monoxide. **Toxicol Appl Pharmacol**; 32: 298–304, 1975.

BANKS, W. Histologia Veterinária Aplicada. **O manual moderno**. México, DF, p.730, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância Sanitária. **PORTARIA Nº 03, DE 16 DE JANEIRO DE 1992**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/1992/prt0003_16_01_1992.html>. Acesso em 11 de maio de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 294, DE 29 DE JULHO DE**

2019. Disponível em:
<<https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-294-de-29-de-julho-de-2019-207941987>>. Acesso em 11 de maio de 2022.

BURK, RF, Lawrence RA e Lane JM. Necrose hepática e peroxidação lipídica no rato devido à administração de paraquat e diquat. **J Clin Invest** 65:1024–1031; 1980.

BUZATO, C.C.B. et al. Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica. Cap. 14, p 335- 366. In: Reinaldo Barreto Oriá, Gerly Anne de Castro Brito. **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. ISBN: 9788580391893. 2016. DOI: 10.5151/9788580391893.

C

CALDAS, L. Q. DE A. Intoxicações Exógenas agudas por CARBAMATOS, ORGANOFOFORADOS, COMPOSTOS BIPYRIDÍLICOS E PIRETRÓIDES. **Centro de Controle de Intoxicações**, p. 27–34, 2000.

CARNEIRO, FF. et al. Organizadores. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, São Paulo: Expressão Popular. 2015.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S.. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **REGET**, v.18, n.1, p.437- 445, 2014.

CHARLES, J.M. et al. Absorption of paraquat and diquat from the airways of perfused rat lung. **Toxicology**. 1978;8:59-67.

D

DANIEL, J. W., GAGE, J. C. Absorption and excretion of diquat and paraquat in rats. **British journal of industrial medicine**, 23(2), 133–136. 1966. doi:10.1136/oem.23.2.133.

DJUKIC, M. et al. Influence of glutathione reductase on diquat neurotoxicity assessed by oxidative/nitrosative stress in the cortex of intrastrially treated rats. **Acta Veterinaria**, v. 62, n. 5–6, p. 553–568, 2012.

DOSTERT, C. et al. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. **Science (New York, N.Y.)**, 320(5876), 674–677. 2008. <https://doi.org/10.1126/science.1156999>.

F

FARIA, R. I. DA S. B. Intoxicação por Diquat. **Acta Toxicol. Argent.**, v. 25, p. 39–46, 2017.

G

GALLAGHER, E.P. et al. The effects of diquat and ciprofibrate on mRNA expression and catalytic activities of hepatic xenobiotic metabolizing with exposure to pesticides, farming, well water and rural living. **Neurology**. 1995;50(5):1346-50.

GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 3, p. 419–425, 2017.

GENESER, F. Histology on the Molecular Bases. **Médica Pan-Americana**. Bons ares. 3 ed. p. 813, 2001.

H

HAN, J. et al. Betanin attenuates paraquat-induced liver toxicity through a mitochondrial pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 70, p. 100-106. 2014.

HUA, H. et al. Glycine alleviated diquat-induced hepatic injury via inhibiting ferroptosis in weaned piglets. **Animal bioscience**, 35(6), 938–947. 2022. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0298>.

HIGUCHI, M. et al. Wheat bran protects Fischer-344 rats from diquat-induced oxidative stress by activating antioxidant system: selenium as an antioxidant. **Biosci Biotechnol Biochem.**, 75:496–499, 2011b. Doi: 10.1271/bbb.100719.

I

INCA. Agrotóxico: **Exposição no trabalho e no ambiente**. Instituto Nacional de Câncer, 2019. Disponível em:<[Agrotóxico | INCA - Instituto Nacional de Câncer](#)>. Acesso em: 11 de maio de 2022.

J

JONES, G. M.; VALE, J. A. Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of diquat poisoning: a review. **Journal of toxicology**. Clinical toxicology, vol. 38, issue 2, p 123, 2000.

JUNQUEIRA, L. C. U e CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Guanabara Koogan. 12. ed., Cap. 9, p. 151-154. ISBN 978 -85-277-23 11-4. Rio de Janeiro, 2013.

K

KORTEKAMP, A. Herbicides and Environment. **Intech, Janeza Trdine**, v. 9, 1 ed., p. 471-492. 2011. ISBN 978-953-307-476-4.

KRAEHMER, H. et al. Herbicides as Weed Control Agents: State of the Art: I. Weed Control Research and Safener Technology: The Path to Modern Agriculture. **Plant Physiology**, v. 166, n. 3, p. 1119–1131, 2014.

KRAEHMER, H. Innovation: Changing trends in herbicide discovery. **Outlooks on Pest Management**, v. 23, n. 3, p. 115–118, 2012.

KULKARNI, A.P.; BYCZKOWSKI. Hepatotoxicology. In: HODGSON, E.; LEVI, P.E. **Introduction to biochemical toxicology**, p.450-489, 1994.

L

LEE, W.M. Drug-induced hepatotoxicity. **N Engl J Med., Massachusetts**, v. 333, n.17, p.1118-1126, 1995.

LIU, Z. et al. (2015). Hydrogen Sulfide Protects against Paraquat-Induced Acute Liver Injury in Rats by Regulating Oxidative Stress, Mitochondrial Function, and Inflammation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, 16 pages, Doi:10.1155/2020/6325378NWANI.

LIU, Z. et al. Hydrogen Sulfide Protects against Paraquat-Induced Acute Liver Injury in Rats by Regulating Oxidative Stress, Mitochondrial Function, and Inflammation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, 16 pages. 2020. Doi:10.1155/2020/6325378NWANI.

LOPES, A. T.; MANSO, C. Paraquat e diquat: mecanismos de toxicidade. **Acta medica portuguesa**, v. 2, n. 1, p. 35–39, 1989.

LU, T. et al. Protective effects of Forsythia suspensa extract against oxidative stress induced by diquat in rats. **Food and Chemical Toxicology**, 48, 764–770, 2010. Doi:10.1016/j.fct.2009.12.018.

M

MAGALHÃES, N.; CARVALHO, F.; DINIS-OLIVEIRA, R.J. Human and experimental toxicology of diquat poisoning: Toxicokinetics, mechanisms of toxicity, clinical features, and treatment. **Hum Exp Toxicol**. Nov; 37(11), 2018.

STOPPELLI, I. M. B e MAGALHÃES, C. P. Health and food safety: the pesticides issue. **Ciência saúde coletiva**. Dez, 2005.

MANOHARAN, S. et al. The Role of Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Huntington's Disease: A Mini Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016.

MOREIRA, JC et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva** 7(2):299-311. 2002.

N

NIKI, E. et al. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 338, n. 1, p. 668–676, 2005.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, v. 5, n. 35, p. 27986–28006, 2015.

O

OLIVER, C.N. et al. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia reperfusion-induced injuries to gerbil brain. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.87, p.5144-5147, 1990.

P

PARKASH, S. Adsorption of cationic pesticides (diquat and paraquat) from aqueous solution by activated carbon. **Carbon**, v. 12, p. 483–491, 1974.

PEDLOWSKI et al. Modes of pesticides utilization by Brazilian smallholders and their implications for human health and the environment. **Crop Protection**, 31(1), 113–118, 2012.

PEREIRA, J. N.; CORRÊA, J. A. J. Análise das intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no Brasil entre 2009 e 2014. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.159-168, 2018.

PIZZUTTI, I. R. et al. Determination of paraquat and diquat: LC-MS method optimization and validation. **Food Chemistry**, v. 209, p. 248–255, 2016.

R

RECKNAGEL, R.O.; GLENDE, E.A.; BRITTON, R.S. Free Radical Damage and Lipid Peroxidation; In: MEEKS, R. G.; HARRISON, S.D.; BULL, R.J. **Hepatotoxicology**, p.401-436, 1991.

RIBEIRO, I. M. L. et al. Neuroprotective effect of isobenzofuranones on hydrogen peroxide-mediated redox imbalance in primary cultures of hippocampal neurons. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, p. 1–8, 2020.

RIKANS, L.E.; Cai Y. Diquat-induced oxidative damage in BCNU-pretreated hepatocytes of mature and old rats. **Toxicol Appl Pharmacol**. 1993;118(2):263-70.

ROBERTS, J.R e ROUTH REIGART, C. J. Paraquat & Diquat. Cap 12, p 110- 117. In: Recognition and Management of Pesticide Poisonings: Sixth Edition: 2013. **Environmental Protection Agency (EPA)**.

ROMAN, E. S. et al. **Como Funcionam Os Herbicidas: da biologia à aplicação**. Gráfica Editora Berthier, p. 1–152, 2005.

S

S. MARIATHASAN. et al., “Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf,” **Nature**, vol. 430, no. 6996, pp. 213–218, 2004.

SANDY et al. Role of redox cycling and lipid peroxidation in bipyridyl herbicide cytotoxicity: Studies with a compromised isolated hepatocyte model system. **Biochemical Pharmacology**, Volume 35, Issue 18, Pages 3095-3101, 1986.

SCHINONI, M. I. **Fisiologia Hepática**. Faculdade de Medicina da Bahia da UFBA; Salvador, BA, Brasil, 2006; 76:Suplemento 1:S5-S9.

SENARATHNA, L. et al. Prediction of outcome after paraquat poisoning by measurement of the plasma paraquat concentration. **Q J Med**. 2009;102:251–259.

SERRA, A.; DOMINGOS, F.; PRATA, M. M. Paraquat intoxication. **Acta medica portuguesa**, v. 16, n. 1, p. 25–32, 2014.

V

VATS, S. Herbicides: History, Classification and Genetic Manipulation of Plants for Herbicide Resistance. In: Lichtfouse E. (eds) **Sustainable Agriculture Reviews**, vol 15. Springer, Cham. 2015.

W

WU, K.C; ZHANG, Y; KLAASSEN, C.D. Nrf2 protege contra lesão hepática e pulmonar induzida por diquat, **Free Radical Research**, 46:10, 1220-1229. 2012; DOI: [10.3109/10715762.2012.700709](https://doi.org/10.3109/10715762.2012.700709).

X

XU, J. et al. Melatonin reduces mortality and oxidatively mediated hepatic and renal damage due to diquat treatment. **Journal of Pineal Research**, v. 42, n. 2, p. 166–171, 2007.

Z

ZIMMERMAN, H.J.; MADDREY, W.C. Toxic and drug-induced hepatitis. In: SCHIFF, L; SCHIFF, E.R. Diseases of the Liver., **Philadelphia: JB Lippincott**; p.707-83, 1993.

ZUZMA-KOZAKIEWICZ, M. et al. Recurrent K3E mutation in Cu/Zn superoxide dismutase gene associated with amyotrophic lateral sclerosis. **Taylor and Francis Online**. p.608-614, 2013.

