

Glifosato como desregulador endócrino químico

Glyphosate as endocrine chemical disruptor

Renata Marino Romano¹

Marco Aurélio Romano²

Cláudio Alvarenga de Oliveira³

Resumo

Desreguladores endócrinos são moléculas exógenas ambientais que podem afetar a síntese, secreção, transporte, metabolismo, ligação, ação e catabolismo de hormônios naturais do organismo, podendo exercer seu efeito mesmo quando em mínimas quantidades. O glifosato é um herbicida utilizado no combate às plantas daninhas prejudiciais a diversas culturas, bastante efetivo, não seletivo e pós-emergente que inibe o crescimento da planta através da interferência com a produção de aminoácidos aromáticos essenciais pela inibição da fotossíntese. Em baixas concentrações não tóxicas ele causa efeito de desregulação sobre a enzima aromatase em células de placenta humana *in vitro*, reduzindo a atividade da enzima aromatase e reduzindo a expressão da proteína StAR (proteína de regulação rápida da esteroidogênese). A contaminação do solo e da água tanto fluvial como subterrânea, pelo intenso uso do glifosato, pode levar a distúrbios reprodutivos, além da possibilidade da persistência de resíduos destas substâncias no sangue, na carne, no leite, na urina e nas fezes dos animais levando à recontaminação do solo e podendo chegar ao consumo humano. O objetivo desta revisão é apresentar informações atuais sobre a toxicologia do glifosato e a sua importância sobre a saúde humana, suscitando o debate nessa área, uma vez que a legislação brasileira ainda não contempla o controle desse tipo de efeito tóxico.

Palavras-chave: desregulador endócrino químico; glifosato; Roundup.

1 M.Sc.; Médica Veterinária; Doutoranda em Ciências (Fisiologia Humana) no Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo – ICB/USP; E-mail: reromano@usp.br

2 Dr.; Médico Veterinário; Professor do Departamento de Farmácia na Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO; E-mail: mromano@unicentro.br

3 PhD; Livre-Docência pela FMVZ-USP; Médico Veterinário; Professor do Departamento de Reprodução Animal na Universidade de São Paulo – USP; Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq; E-mail: cadolive@pg.cnpq.br

Abstract

Endocrine disruptors (EDs) are exogenous molecular factors that may affect the synthesis, secretion, transport, metabolism, binding, action, and catabolism of the body's natural hormones. They are able to produce their effect even when they are present in minimum quantities. Glyphosate is an herbicide used to combat weeds that are harmful to different plants. It is very effective, non-selective and post-emergent, inhibiting the plant growth by interfering with the production of essential aromatic amino acids for the inhibition of photosynthesis. At low and non-toxic concentrations it causes disruption effects upon the aromatase enzyme in human placenta cells in vitro, reducing the activity of this enzyme and reducing the expression of the StAR protein (steroid acute regulatory protein). The contamination of soil and of both surface and underground water due to the intense use of glyphosate may lead to reproductive disorders and also the possibility of the persistence of residues of these substances in blood, meat, milk, urine and animal excrements, leading to the recontamination of the soil and possibly reaching products consumed by humans. The purpose of this review has been to provide current information on the toxicology of glyphosate (formulation Roundup) and its importance for human health, raising the debate in this field, since the Brazilian legislation does not address the control of such toxic effects yet.

Key words: endocrine chemical disrupter; glyphosate; Roundup.

Introdução

Durante os últimos cinquenta anos, as indústrias químicas ligadas à agricultura e pecuária produziram inúmeros produtos químicos para utilização no meio ambiente, entre os quais podem ser encontradas substâncias que mimetizam hormônios ou possuem atividade de desregulação endócrina, especialmente com propriedades estrogênicas ou de hormônios tireoideanos (SOLOMON e SCHETTLER, 2000; SCOTT, 2005).

Estas substâncias, denominadas desreguladores endócrinos químicos, incluem diversos produtos de uso comum na agricultura como alquilfenóis, glifosato, ácido diclorofenoxiacético (2,4D),

praguicidas organoclorados, metolacoloro, acetocloro, alacoloro, clorpirifós, metoxicloro e piretróides sintéticos (KRIMSKI, 2000; CURWIN et al., 2005).

Desregulação endócrina, no entanto, não é um fenômeno recente. Em 1930, estudos envolvendo animais de laboratório demonstraram propriedades estrogênicas de um grande número de produtos químicos industriais, dentre eles o DDT (diclorodifeniltricloroetano), um praguicida que causou feminilização em galos (SOLOMON e SCHETTLER, 2000).

As alterações endócrinas podem ser decorrentes de antagonismos e sinergismos bioquímicos ou em receptores específicos para os hormônios esteróides. No geral, relacionam-se com o aumento

do *clearance* metabólico da testosterona, decréscimo na síntese de testosterona, ação anti-androgênica de alguns praguicidas como o DDE (metabólito do DDT) e aumento da secreção dos estrógenos pela ação de substâncias como o DDT, dieldrin, metoxicloro e toxafeno (LE BLANC et al., 1997).

No entanto, seu potencial risco desregulador não está somente no contato direto com os componentes, mas na interação destes com outras substâncias ou com produtos nitrogenados contidos nos fertilizantes encontrados no solo e na água do subsolo (PORTER et al., 1999; SCOTT, 2005).

Seus efeitos podem ser agudos ou crônicos, na dependência do tempo de exposição, concentração no ambiente, modo de contato com o produto e tipo de degradação, interferindo no padrão hormonal dos reprodutores e promovendo queda na fertilidade e até infertilidade (AKINGBEMI et al., 2004).

Baseada nestas informações e no fato do crescente uso de fitossanitários no Brasil, esta revisão aborda aspectos químicos e toxicológicos do herbicida glifosato, por ser amplamente utilizado na agricultura e na jardinagem; e também conceitos de endocrinologia reprodutiva e morfologia testicular, objetivando, principalmente, a promoção da discussão dos efeitos tóxicos sobre o sistema endócrino, pois é fundamental que novos critérios de avaliação toxicológica sejam implementados no controle desses produtos pelos órgãos competentes.

Glifosato

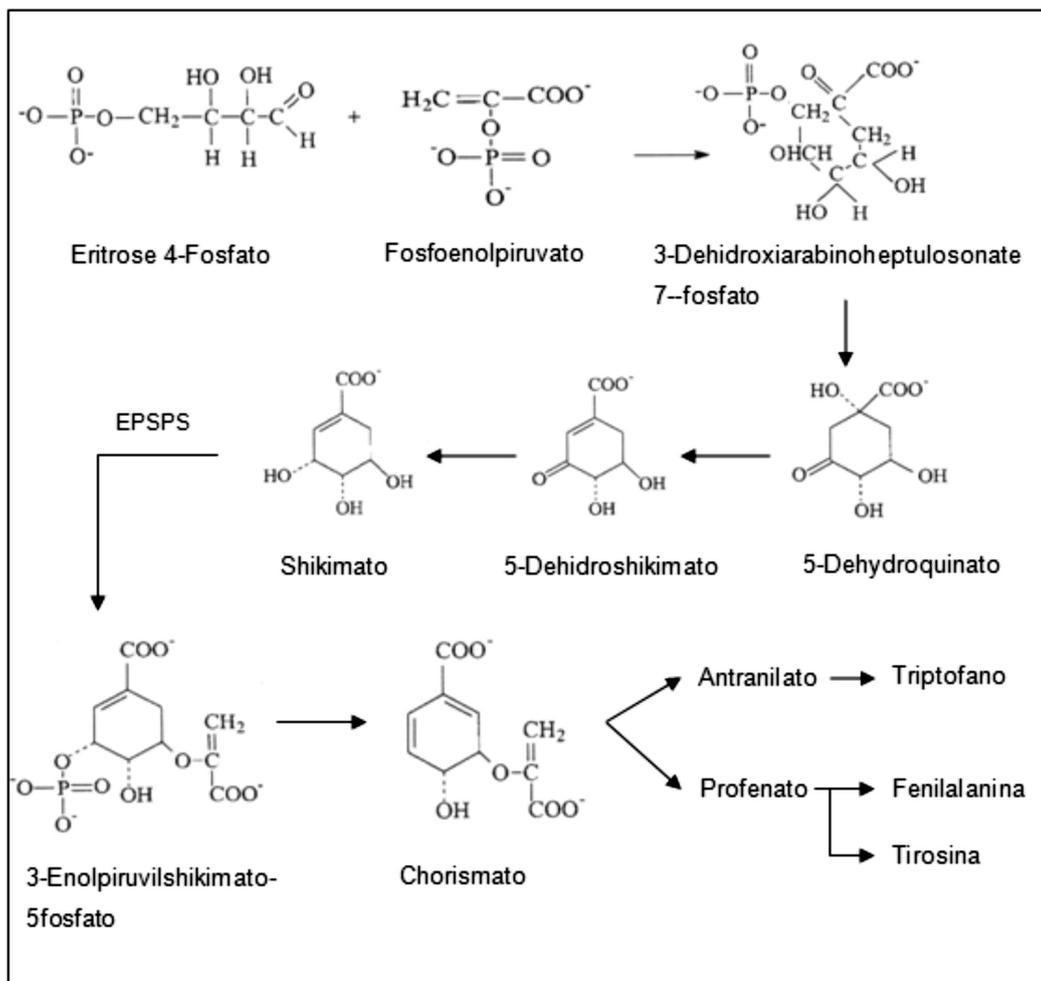
O glifosato [nome comum; nome químico: N-fosfometilglicina

(C₃H₈NO₅P)] é um herbicida utilizado no combate às plantas daninhas prejudiciais a diversas culturas, bastante efetivo, não seletivo e pós-emergente (CERDEIRA et al., 2007), representando cerca de 30% do total de herbicidas utilizados na lavoura (INOUE et al., 2003). Nas culturas tradicionais, sua aplicação é realizada antes do plantio ou após o plantio com uso de equipamentos adequados para evitar o contato com a planta cultivada. O desenvolvimento de sementes de espécies comerciais resistentes ao glifosato (transgênicas) proporciona segurança na aplicação do produto em qualquer fase do crescimento da planta (CERDEIRA et al., 2007).

Seu uso ainda contempla o controle de plantas daninhas aquáticas, onde seu efeito sobre a biodiversidade ainda é discutível (SANCHES et al., 2003; BRAUSCH e SMITH, 2007). O estudo comparativo de diferentes formulações à base de glifosato em sedimentos aquáticos demonstra toxicidade relativa à formulação, sendo que os organismos estudados, *Ceriodaphnia dubia* e *Hyalella azteca*, mostram-se bastante sensíveis a esse herbicida (TSUI e CHU, 2004).

O glifosato inibe o crescimento da planta através da interferência com a produção de aminoácidos aromáticos essenciais pela inibição da enzima enolpiruvilshikimato fosfatossintase (EPSPS), a qual é responsável pela biossíntese de chorismato, um intermediário na biossíntese da fenilalanina, tirosina e triptofano (Figura 1). Esta via para a biossíntese de aminoácidos aromáticos não é expressa por nenhum membro do reino animal, tornando esse mecanismo de ação exclusiva às plantas (WILLIAMS et al., 2000; CERDEIRA et al., 2007).

Figura 1. Via metabólica para a síntese de aminoácidos aromáticos essenciais nas plantas. O glifosato atua por inibição competitiva da enzima enolpiruvilshikimatofosfosintase (EPSPS) e, conseqüente, inibição da síntese dos aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina



Fonte: WILLIAMS et al., 2000

As sementes transgênicas apresentam a expressão do gene CP4EPSPS da *Agrobacterium* sp, que inibe o efeito da enzima natural da semente, transpondo o efeito do herbicida e produzindo as sementes resistentes ao glifosato. As variedades de soja resistentes ao glifosato são denominadas GRS, *glyphosate resistentes*

soybeans (CERDEIRA e DUKE, 2006; CERDEIRA et al., 2007).

O glifosato é degradado pelos microorganismos presentes no solo com meia-vida frente à biodegradação de aproximadamente 28 dias, chegando a 90% em noventa dias. A persistência do produto no solo é de trinta a noventa dias (RODRIGUES e ALMEIDA,

Sul, em áreas de cultivo intenso de arroz, evidenciou a ocorrência em baixas concentrações, desses produtos, mas estando em conformidade com os níveis máximos estabelecidos pela legislação brasileira e americana (SILVA et al., 2003).

Entretanto, a detecção de resíduos de praguicidas em residências de agricultores (CURWIN et al., 2005) e a presença desses resíduos e seus metabólitos em urina das famílias residentes em área agrícola (CURWIN et al., 2006) demonstra que há risco de exposição ambiental, o que torna importante o conhecimento dos efeitos tóxicos em baixas doses por períodos prolongados (CURWIN et al., 2005; CURWIN et al., 2006). Além disso, a presença de alguns tipos de resíduos em alimentos também tem sido identificada (COX e SURGAN, 2006).

Formulações comerciais de glifosato: ingredientes ativos e inertes

O registro de praguicidas define a composição do produto em ingredientes ativos e inertes. Os ingredientes ativos são os responsáveis pela ação principal do praguicida, matando, repelindo ou prevenindo a manifestação de pragas. Os ingredientes inertes são formados pelos adjuvantes, podendo ter efeito próprio, com ação química, sendo inclusive potencialmente tóxico para o ser humano (COX e SURGAN, 2006).

Existem diferenças na eficácia das formulações de glifosato de acordo com o tipo de ingrediente inerte que é adicionado (HAEFS et al., 2002; BELLES et al., 2006). Nos ensaios toxicológicos é observada maior toxicidade nas

formulações comerciais de glifosato do que quando se utiliza somente o sal de n-fosfonometilglicina, indicando que a toxicidade dos ingredientes inertes é maior que a do ingrediente ativo, e que a sua presença produz maior efeito tóxico (SURGAN, 2005; COX e SURGAN, 2006).

Isso ainda pode ser confirmado em cultivos de células testiculares de camundongos (*Mus musculus*) (WALSH et al., 2000), em mitocôndrias de hepatócitos de ratos (*Rattus norvegicus*) (PEIXOTO, 2005), em cultivo de células placentárias humanas (RICHARD et al., 2005; BENACHOUR et al., 2007), em cultivo de células embrionárias humanas (BENACHOUR et al., 2007) e em embriões invertebrados (MARC et al., 2002).

Estudos toxicológicos *in vitro* e *in vivo*

Vários estudos foram conduzidos para demonstrar a segurança e as limitações da utilização do glifosato, e sua marca comercial mais conhecida, o Roundup[®]. Ensaios, avaliando seus efeitos tóxicos sobre animais de laboratório, incluindo camundongos, ratos, coelhos, cães, macaco e galos; e outros *in vitro* em culturas celulares distintas vêm sendo realizados a partir da década de 70 (WILLIAMS et al., 2000).

A excreção do glifosato ocorre por via fecal, sendo observada nas fezes a presença de 62 a 69% da dose oral administrada, e por via renal, sendo encontrada cerca de 36% da dose oral na urina. A meia-vida da eliminação pelas fezes e urina é calculada em dois dias. A eliminação do produto é predominantemente na forma química

como foi ingerido, havendo pequena transformação em AMPA. Também não é evidenciada a formação de metabólitos tóxicos (BREWSTER et al., 1991; WILLIAMS et al., 2000).

Em ampla revisão realizada por Williams (2000), os autores citam que não há evidências que doses orais de 0 a 30mg/kg e de 0 a 30.000 ppm levem a alterações significativas na capacidade de ratos se reproduzirem. Porém, observa-se a redução nas concentrações espermáticas no epidídimo em cerca de 20% em animais expostos a doses orais de 25.000 ppm e 50.000 ppm. Fêmeas que recebem a dose de 50.000 ppm apresentam elevação no comprimento do ciclo estral de 4,9 para 5,4 dias.

Apesar disso, observa-se que algumas agricultoras que utilizam glifosato têm problemas para engravidar, mas o seu mecanismo de ação em mamíferos ainda é questionado. Richard et al. (2005) demonstraram que o glifosato em baixas concentrações não tóxicas causa efeito de desregulação sobre a enzima aromatase em células de placenta humana *in vitro*. A partir do momento que o glifosato penetra na célula, e isso é facilitado nas formulações de Roundup® com adjuvantes, ele reduz a atividade da enzima aromatase, responsável pela síntese de estrógenos.

A diminuição da atividade da aromatase também foi observada em cultivos de células embrionárias humanas, sendo estas mais sensíveis que as células placentárias. A desregulação da aromatase foi mais intensa na presença de Roundup®, mas também foi observada na utilização de glifosato sem adjuvantes. Efeitos citotóxicos também

foram observados, sendo maiores com o maior período de exposição ao produto, mostrando efeito tempo e dose dependentes (BENACHOUR et al., 2007).

A exposição de patos (*Anas platyrhynchos*) ao Roundup® causa diminuição significativa na produção de testosterona, afetando em aproximadamente 90% a sua concentração plasmática em doses de 5 ou 100 mg/kg. Também há redução na concentração plasmática de estradiol nos animais expostos à dose de 5 mg/kg (OLIVEIRA et al., 2007).

Alterações no desenvolvimento da puberdade em ratos (*Rattus norvegicus*) evidenciado pelo atraso à separação balanoprepucial e alterações no peso ponderal são observadas em exposição prolongada ao Roundup® em doses de 5, 50 e 250 mg/kg (ROMANO et al., 2008).

Sistema endócrino reprodutivo e sua susceptibilidade aos desreguladores endócrinos

A puberdade é a fase do desenvolvimento onde ocorrem profundas alterações hormonais, físicas, comportamentais e psicológicas que tornam o indivíduo capaz de se reproduzir, pela produção de gametas viáveis transferidos através de um sistema reprodutivo maduro. O início da puberdade, nos mamíferos, depende de uma sequência completa e ordenada de alterações maturacionais que são iniciadas no cérebro, no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Esse eixo compreende a estimulação à produção e liberação das gonadotrofinas hipofisárias LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante)

pela secreção hipotalâmica de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas). O LH e o FSH atuam sobre as gônadas masculinas e femininas estimulando a produção de hormônios sexuais (testosterona, estradiol e progesterona) e de gametas (espermatozóides e óvulos) (OJEDA e BILGER, 2000).

Os andrógenos são os esteróides com dezenove moléculas de carbono, sendo a testosterona o andrógeno mais importante secretado pelos testículos (HALL, 1994). A síntese dos hormônios esteróides utiliza como precursor o colesterol. Dentro da célula, este forma depósitos no citoplasma na forma de ésteres, que serão utilizados à medida que a esteroidogênese se intensifica (EPAND, 2006). O transporte intracelular de colesterol à membrana mitocondrial é feito pelas proteínas de regulação rápida da esteroidogênese (proteínas StAR) (STOCCO e CLARK, 1996; EPAND, 2006). A primeira transformação bioquímica sofrida pelo colesterol é sua conversão a pregnenolona, pelas enzimas citocromo P450_{scc}, que tornam essas substâncias mais solúveis em água, em resposta à hidroxilação (HALL, 1994). Em seguida, a pregnenolona é transferida ao retículo endoplasmático para ser convertida em progesterona. Esta retorna à mitocôndria para transformação em androstenediona. Finalmente, a conversão de androstenediona em testosterona é realizada por enzimas no retículo endoplasmático. Essa reação é livremente reversível e a enzima 17 β hidroxiesteróides desidrogenase (17 β HSD) possui dois sítios ativos, sugerindo que a atividade enzimática é influenciada pelas concentrações disponíveis tanto de

androstenediona quanto de testosterona e ainda pela taxa de remoção de produtos da reação (HALL, 1994).

As células testiculares também produzem pequenas quantidades de estrógenos. Nos humanos apenas 10% do estradiol circulante é proveniente dos testículos, sendo o tecido adiposo o principal produtor, enquanto que nos ratos a maioria do estradiol é proveniente da síntese testicular (AKINGBEMI, 2005). Os estrógenos são produzidos a partir da conversão de androstenediona ou de testosterona, e é caracterizada pela perda de uma molécula de carbono. Esta conversão é realizada pela enzima aromatase. Os esteróides de maior ocorrência com atividade estrogênica são o estradiol, o estriol e a estrona (NORMAN e LITWACK, 1997).

A atual preocupação com a exposição masculina a agentes estrogênicos ambientais tem levado a pesquisas na relação da sensibilidade a ação desses estrógenos. A secreção hormonal de gonadotrofinas (FSH e LH) é regulada no hipotálamo e hipófise pela síntese de esteróides gonadais. A localização dos receptores de FSH está restrita às células de Sertoli, enquanto os receptores de LH se expressam nas células de Leydig (AKINGBEMI, 2005).

Apesar dessa distribuição definida dos receptores gonadotróficos, a expressão de receptores de estrógenos é mais diversificada. São encontrados em núcleos hipotalâmicos e gonadotrofos hipofisários, indicando que os estrógenos podem atuar diretamente sobre o eixo hipotalâmico e influenciar na liberação das gonadotrofinas. Os receptores de estrógenos também são encontrados em

células de Leydig, em células mióides peritubulares e em células germinativas (SHUGHRUE et al., 1998).

A expressão da enzima aromatase é identificada em vários tipos celulares do testículo adulto, incluindo células de Leydig, de Sertoli, espermátocitos, espermátides e espermatozóides. No testículo fetal é encontrada, somente nas células de Leydig e de Sertoli (FISHER et al., 1998; LEVALLET et al., 1998).

Estudos com animais *knockout* para os receptores de estrógenos (ERKO α) demonstram que os níveis de LH e testosterona estão elevados (EDDY et al., 1996). A deleção gênica dos receptores de estrógenos ERKO α não ocasiona alterações nos níveis de LH e testosterona (OGAWA et al., 1999). A não expressão da enzima aromatase (animais ARKO) implica em níveis elevados de FSH, LH e testosterona e ausência de 17 β estradiol (FISHER et al., 1998; ROBERTSON et al., 1999).

O mecanismo de desregulação do glicosato estudado por Walsh (2000) em cultivo celular de Leydig da linhagem tumoral MA-10, quantificou a expressão da proteína StAR e da enzima aromatase nos cultivos celulares submetidos a diferentes concentrações de Roundup[®]. Há a redução de 90% dos níveis da proteína StAR, implicando que, de cada cem moléculas de colesterol disponíveis para o transporte ao interior da membrana mitocondrial, apenas dez atingiram o sistema enzimático P450 scc . Em seguida, a conversão de colesterol em pregnenolona foi reduzida em 71% pela inibição da atividade de P450 scc . Ao final das transformações bioquímicas observou-se a redução de 94% na esteroidogênese total.

Morfologia testicular e sua susceptibilidade ao desreguladores endócrinos

Os testículos são compostos em seu parênquima por túbulos seminíferos, que são envoltos por uma cápsula composta por três camadas. As paredes dos túbulos seminíferos são formadas por células germinativas e de Sertoli, onde se realiza a espermatogênese. As células de Sertoli envolvem as células germinativas desde a periferia até o lúmen do túbulo, formando a barreira hemato-testicular. O tecido intersticial que ocupa cerca de 5% do volume testicular total contém as células de Leydig, que são responsáveis pela produção testicular de andrógenos (NORMAN e LITWICK, 1997).

A privação estrogênica em camundongos ARKO causa vários problemas na morfologia e arquitetura dos túbulos seminíferos. Nesses animais há diminuição na espermatogênese, enquanto nenhuma alteração na secreção de gonadotrofinas ou andrógenos é observada. Inicialmente, observam-se problemas nos estágios iniciais de espermiogênese, pelo aumento de apoptose celular e aparecimento de células multinucleadas, e redução significativa nas espermátides alongadas. As células de Sertoli e as células germinativas primordiais não são alteradas. Em contraste, houve hiperplasia e hipertrofia das células de Leydig, provavelmente por ocorrerem maiores níveis circulantes de LH (ROBERTSON et al., 1999).

A desregulação dos receptores de estrógenos em camundongos ERKO α também causa distúrbios morfológicos nos testículos. Os animais homozigotos

apresentaram quantidades muito menores de espermatozóides epididimais que os selvagens e os heterozigotos, além de serem inférteis (apesar da aparência macroscópica normal dos órgãos reprodutivos). A observação histológica dos túbulos seminíferos revela a presença de lúmen dilatado e epitélio seminífero desorganizado com poucas células espermatogênicas ou ausência de lúmen e presença de células de Sertoli (EDDY et al., 1996).

Apesar de a presença de estrógeno nos testículos ser importante, vários estudos com substância de ação estrogênica também evidenciam problemas na morfologia testicular e na espermatogênese. A exposição neonatal ao dietilestilbestrol (DES), ao octilfenol ou ao bisfenol-A causa retardo na espermatogênese puberal (dezoito dias idade), diminuição no peso testicular, formação de lúmen, aumento no volume nuclear do espermátócito e elevação na apoptose de células germinativas (GOYAL et al., 2003; ATANASSOVA et al., 2005).

A inibição da produção de testosterona observada *in vivo* por Oliveira (2007) e Romano (2007) resulta no comprometimento da espermatocitogênese, com redução significativa das camadas do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos, sem alterações macroscópicas evidentes.

Considerações finais

O glifosato é um herbicida muito comumente utilizado, facilmente adquirido, sendo classificado pela ANVISA como de toxicidade III ou produto medianamente tóxico (BRASIL, 2002). Entretanto, a sua toxicidade sobre o sistema reprodutivo é evidente, em diversas espécies animais, e em doses consideradas pequenas.

O sistema endócrino reprodutivo é composto pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal o qual é regulado finamente pela produção e liberação de hormônios em pequenas quantidades. Produtos químicos, como o caso do glifosato formulado, são capazes de interferir nesse eixo podendo causar grandes problemas reprodutivos em exposições prolongadas, sem que haja outros prejuízos ao funcionamento geral do organismo.

Por essa razão, é necessário que se estabeleçam critérios de segurança dos produtos químicos considerando-se, também, seu potencial como desregulador endócrino, e não apenas sua toxicidade aguda e crônica sobre a fertilidade de maneira genérica, sem uma análise mais profunda da fisiologia reprodutiva.

Referências

ABREU-JR, C. H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A. F. Relationship between acidity and chemicals properties of Brazilian soils. *Science Agricultural*, v. 60, p. 337-343, 2003.

AKINGBEMI, B. T.; GE, R.; KLINEFELTER, G. R.; ZIRKIN, B. R.; HARDY M. P. Phthalate-Induced Leydig cell Hyperplasia is Associated With Multiple Endocrine Disturbances. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 3, p. 775-780, 2004.

AKINGBEMI, B. T. Estrogen regulation of testicular function. *Reproductive Biology and Endocrinology*, v. 51, n. 3, p. 1-13, Set. 2005.

ATANASSOVA, N. N.; WALKER, M.; MCKINNEL, C.; FISHER, J. S.; SHARPE, R. M. Evidence that androgens and oestrogens, as well follicle stimulating hormone, can alter Sertoli cell number in the neonatal rat. *Journal of Endocrinology*, v. 184, p. 107-117, 2005.

BELLES, D.; SHANER, D.; WESTRA, P.; BRUNK, G. Comparison of efficacy absorption and translocation of three glyphosate formulations on velvetleaf. *Pesticide Management Science*, v. 62, p. 1177-1181, 2006.

BENACHOUR, N.; SIPAHUTAR, H.; MOSLEMI, S.; GASNIER, C.; TRAVERT, C.; SERALINI, G.E. Time and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 53, p. 126-133, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. *Critérios para a classificação toxicológica*. Manual de procedimentos para análise toxicológica de produtos agrotóxicos, seus componentes e afins. Brasília: ANVISA, 2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/manual>>. Acesso em: 17 out. 2005.

BRAUSCH, J. M.; SMITH, P. N. Toxicity of three polyethoxylated tallowamine surfactant formulations to laboratory and field collected fairy shrimp, *Thamnocephalus platyurus*. *Archives of Environmental contamination and toxicology*, v. 52, p. 217 - 221, 2007.

BREWSTER, D.; WARREN, J.; HOPKINS, W. Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats: Tissue distribution, identification and quantification of glyphosate derived materials following a single oral dose. *Fundamental and Applied Toxicology*, v. 17, n. 1, p. 43-51, 1991.

CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O. The Current Status and Environmental Impact of glyphosate - Resistant Crops: A Review. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 35, n. 5, p. 1633 - 1658, 2006.

CERDEIRA, A. L.; GAZZIERO, D. L. P.; DUKE, S. O.; MATALLO, M. B.; SPADOTTO, C. A. Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, v. 42, p. 539-549, 2007.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environmental Health Perspectives*, v. 114, n. 2, p. 1803-1806, 2006.

CURWIN, B. D.; HEIN, M. J.; SANDERSON, W. T.; NISHIOKA, M. G.; REYNOLDS, S. J.; WARM, E. M.; ALAVANJA, M. C. Pesticide constamination inside farm and nonfarm homes. *Journal Occupational Environmental Hygiene*, v. 2, n. 7, p. 357-67, 2005.

CURWIN, B. D.; HEIN, M. J.; SANDERSON, W. T.; STRILEY, C.; HEEDERIK, D.; KROMHOUT, H.; REYNOLDS, S. J.; ALAVANJA, M. C. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. *Journal Occupational Environmental Hygiene*, Published on line, 2006.

EDDY, E. M.; WASHBURN, T. F.; BUNCH, D. O.; GOULDING, E. H.; GLADEN, B. C.; LUBAHN, D. B.; KORACH, K. S. Target disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology*, v. 137, n. 11, p. 4796-4805, 1996.

EPAND, R. M. Cholesterol interactions of proteins with membrane domains. *Progress in Lipid Research*, v. 45, p. 279-94, 2006.

FISHER, C. R.; GRAVES, K. H.; PARLOW, A. F.; SIMPSON, E. R. Characterization of mice deficient aromatase (ARKO) because of targeted disruption of the *cyp19* gene. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 95, p. 6965-70, 1998.

GOYAL, H. O.; ROBATEOU, A.; BRADEN, T. D.; WILLIAMS, C. S.; SRIVASTAVA, K. K.; ALI, K. Neonatal estrogen exposure of male rats alters reproductive functions at adulthood. *Biology of Reproduction*, v. 68, n. 6, p. 2081-2091, 2003.

HAEFS, R.; SCHMITZ-EIBERGER, M.; MAINX, H. G.; MITTELSTAEDT, W.; NOGA, G. Studies on a new group of biodegradable surfactants for glyphosate. *Pesticide Management Science*, v. 58, p. 825-833, 2002.

HALL, P. F. Testicular steroid synthesis: organization and regulation. In: Knobil, E.; Neill, J. D. (Eds). *The physiology of reproduction*. 2 Ed. New York: Raven Press Ltda, v.2, p. 363-410, 1994.

HANEY, R. L.; SENSEMAN, S. A.; HONS, F. M. Bioremediation and biodegradation: effect of Roundup Ultra on microbial activity and biomass from selected soils. *Journal of Environmental Quality*, v. 31, p. 730-735, 2002.

INOUE, M. H.; OLIVEIRA-JR., R. S.; REGITANO, J. B.; TORMENA, C. A.; TORNISIELO, V. L.; CONSTANTIN, J. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no Estado do Paraná. *Planta Daninha*, v. 21, p. 313-323, 2003.

KRIMSKI, S. *Hormonal chaos. The scientific and social origins of the environmental endocrine hypothesis*. Baltimore: John Hopkins University Press, 2000.

LE BLANC, G. A.; BAIN, L. J.; WILSON, V. S. Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 126, n. 1, p. 1-5, 1997.

LEVALLET, J.; BILINSKA, B.; MITTRE, H.; GENISSEL, C.; FRESNEL, J.; CARREAU, S. Expression and immunolocalization of functional cytochrome p450 aromatase in mature rat testicular cells. *Biology of Reproduction*, v. 58, p. 919-26, 1998.

MARC, J.; MULNER-LORILLON, O.; BOULBEN, S.; HUREAU, D.; DURAND, G.; BELLÉ, R. Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/cyclin B activation. *Chemicals Research Toxicology*, v. 15, p. 326-31, 2002.

NORMAN, A. W.; LITWACK, G. *Hormones*. 2 Ed. Califórnia: Academic Press. 1997. 558p.

OGAWA, S.; CHAN, J.; CHESTER, A. E.; GUSTAFSSON, J.; KORACH, K. S.; PFAFF, D. W. Survival of reproductive behaviors in estrogen receptor gene-deficient (ERKO) male and female mice. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 96, n. 22, p. 12887-12892, 1999.

OJEDA, S. R.; BILGER, M. Neuroendocrine regulation of puberty. In: CONN, P. M.; FREEMAN, M. E. (Eds). *Neuroendocrinology in physiology and medicine*. 1 Ed. New Jersey: Humana Press Inc., p. 197-224, 2000.

OLIVEIRA, A. G.; TELLES, L. F.; HESS, R. A.; MAHECHA, G. A. B.; OLIVEIRA, C. A. Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos*. *Reproductive Toxicology*, v. 23, p. 182-191, 2007.

PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere*, v. 61, p. 1115-22, 2005.

PORTER, W. P.; JAEGER, J. W.; CARLSON, I. H. Endocrine, Immune and Behavioral effects of aldicarb (carbamate), Atrazine (triazine) and nitrate (fertilizers) mixtures at groundwater concentrations. *Toxicology Industrial Health*, v. 15, p. 133-150, 1999.

RICHARD, S.; MOSLEMI, S.; SIPAHUTAR, H.; BENACHOUR, N.; SERALINI, G. Differential effects of glyphosate and Roundup on human placental cells. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 6, p. 716-720, 2005.

ROBERTSON, K. M.; O'DONNELL, L.; JONES, M. E. E.; MEACHEM, S. J.; BOON, W. C.; FISHER, C. R.; GRAVES, K. H.; MCLACHLAN, R. I.; SIMPSON, E. R. Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (cyp19) gene. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 96, p. 7986-91, 1999.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. *Guia de herbicidas*. 4. Ed. Londrina: IAPAR, 1998, p. 648.

ROMANO, R. M. *Efeitos da exposição pré-púbere ao herbicida glifosato no desenvolvimento reprodutivo de ratos Wistar machos*. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Universidade de São Paulo – USP.

ROMANO, R. M.; ROMANO, M. A.; MOURA, M. O.; OLIVEIRA, C. A. A exposição ao glifosato-Roundup causa atraso no início da puberdade em ratos machos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 45, p. 481-487, 2008.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. *Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, p. 53-58, 2003.

SCOTT, F. G. *Developmental Biology*. 6. Ed. Editora Sinauer, 2005. Disponível em: <www.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 14 out. 2005.

SHUGHRUE, P. J.; LANE, M. V.; SCRIMO, P. J.; MERCHENTHALER, I. Comparative distribution os estrogen receptor alpha and beta mRNA in the rat pituitary, gonad and reproductive tract. *Steroids*, v. 63, p. 498-504, 1998.

SILVA, M. D.; PERALBA, M. C. R.; MATTOS, M. L. T. Determinação do glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. *Pesticidas: R Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, p. 19-28, 2003.

SOLOMON, G. M.; SCHETTLER, T. Environment and Health: Endocrine disruption and potencial human health implications. *Canadian Medical Association of Journal*, v. 163, n. 11, p. 1471-76, 2000.

STOCCO, D. M.; CLARK, B. J. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocrinology Reviews*, v. 17, p. 221-244, 1996.

SURGAN, M. H. Toxicity tests: “inert” and active ingredients. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 10, p. A657-A658, Out. 2005.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TSUI, M. T. K.; CHU, L. M. Comparative toxicity of glyphosate-base herbicides: aqueous and sediment porewater exposures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 46, p. 316-323, 2004.

WALSH, L. P.; MCCORMICK, C.; MARTIN, C.; STOCCO, D. M. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental Health Perspectives*, v. 108, n. 8, p. 769-776, 2000.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 31, n. 2, p. 117-165, 2000.