

RESSALVA

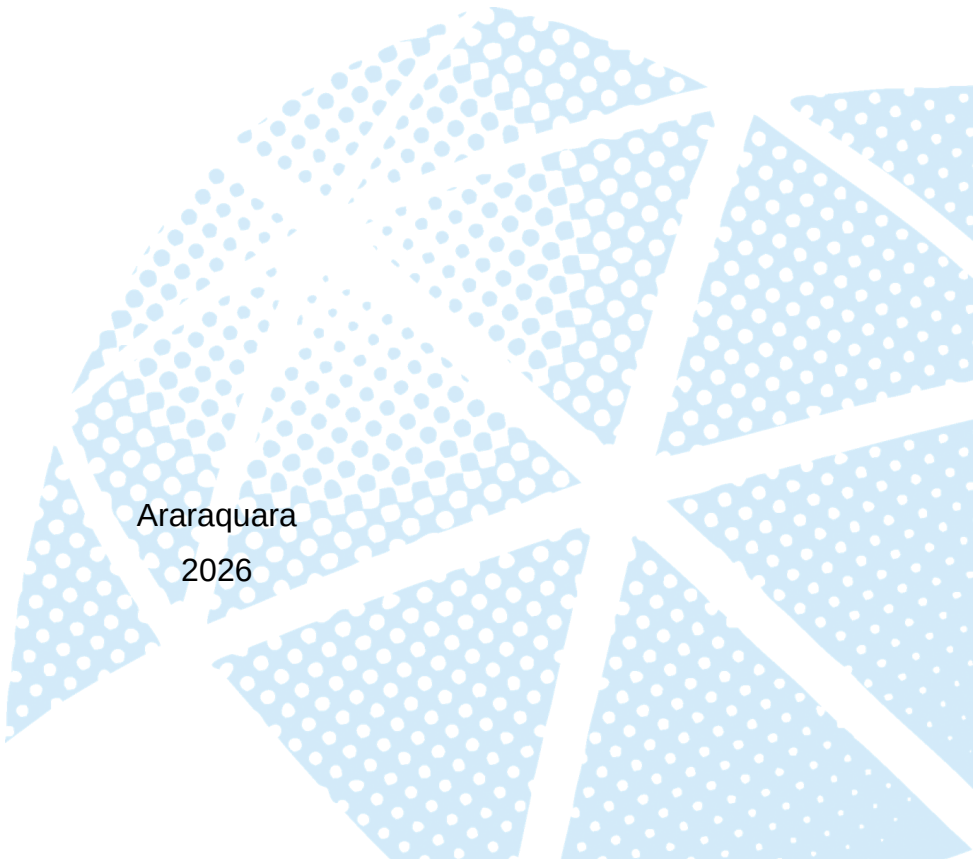
Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

DAIANE RIBEIRO DOS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* COMO MODELO
ALTERNATIVO PARA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ADVERSOS DE
CONTAMINANTES AMBIENTAIS TERBACIL E BROMACIL NO METABOLISMO
ENERGÉTICO**

Araraquara
2026



DAIANE RIBEIRO DOS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* COMO MODELO
ALTERNATIVO PARA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ADVERSOS DOS
CONTAMINANTES AMBIENTAIS TERBACIL E BROMACIL NO METABOLISMO
ENERGÉTICO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, para obtenção do título de Mestra em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia
Aplicada à Saúde

Orientador(a): Profa. Dra. Karen Cristiane
Martinez de Moraes

Araraquara

2026

S237u Santos, Daiane Ribeiro dos
Utilização de *Drosophila melanogaster* como modelo alternativo para avaliação dos efeitos adversos dos contaminantes ambientais Terbacil e Bromacil no metabolismo energético. / Daiane Ribeiro dos Santos. -- Araraquara, 2026
86 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara
Orientadora: Karen Cristiane Martinez de Moraes

1. Toxicologia ambiental. 2. Metabolismo energético. 3. Pesticidas. 4. *Drosophila melanogaster*. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa contribui para a compreensão dos efeitos de contaminantes ambientais na esteatose hepática, utilizando *Drosophila melanogaster* como modelo alternativo inovador. Os resultados fortalecem a toxicologia ambiental, apoiam estratégias preventivas em saúde pública e alinham-se aos ODS relacionados à saúde, ambiente e desenvolvimento sustentável.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research contributes to the understanding of the effects of environmental contaminants on hepatic steatosis, using *Drosophila melanogaster* as an innovative alternative model. The results strengthen environmental toxicology, support preventive strategies in public health, and are aligned with the Sustainable Development Goals related to health, environment, and sustainable development.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Utilização de *Drosophila Melanogaster* como modelo alternativo para avaliação dos efeitos adversos de contaminantes ambientais terbacil e bromacil no metabolismo energético

AUTORA: DAIANE RIBEIRO DOS SANTOS

ORIENTADORA: KAREN CRISTIANE MARTINEZ DE MORAES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **KAREN CRISTIANE MARTINEZ DE MORAES**
Data: 25/02/2026 13:49:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a KAREN CRISTIANE MARTINEZ DE MORAES (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Instituto de Biociências - UNESP - Rio Claro

Prof. Dr. CARLOS ANTONIO COUTO LIMA (Participação Virtual)
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof.^a Dr.^a LETICIA ROCHA GONÇALVES (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Instituto de Biociências - UNESP - Rio Claro

Araraquara, 25 de fevereiro de 2026.

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO	
	DAIANE RIBEIRO DOS SANTOS 11 DE NOVEMBRO DE 1998
Nacionalidade	Brasileira
Nome em citações bibliográficas:	Santos, Daiane Ribeiro Santos, D.R.
Endereço profissional	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de Biociências, Campus de Rio Claro Departamento de Biologia Geral e Aplicada Avenida 24 A, 1515 Bela Vista, Rio Claro – SP CEP 13506-900 Telefone: (19) 99270-1509
Currículo Lattes	http://lattes.cnpq.br/2971720630101474
ORCID	https://orcid.org/0009-0009-5037-5453
Outro identificador	-
FORMAÇÃO ACADÊMICA	
2024/2026	Mestrado em andamento em Biotecnologia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.
2018/2023	Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	
SANTOS, D. R.; <i>et al.</i> Impactos do cotidiano no meio ambiente. In: Capítulo de livro . ISBN: 978-65-87322-10-0, 2021.	
PARTICIPAÇÃO EM BANCAS E ORIENTAÇÕES	
Bancas de trabalhos de conclusão	

-
Orientações
-
PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS
CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOLOGIA CELULAR (SBBC), 22., 2024, São Paulo. Análise da ação de contaminantes ambientais uracilo-derivados no metabolismo lipídico pró-esteatótico em <i>Drosophila melanogaster</i>. 2024. (Congresso). CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA (SBG), 69., 2024, Campos do Jordão. Using <i>Drosophila melanogaster</i> as an alternative model to evaluate the toxicological effects of environmental contaminants terbacil on energy metabolism. 2024. (Congresso). TOXILATIN, 2025, Porto Alegre. Evaluation of the toxicological effects of the herbicide terbacil on energetic metabolism of <i>Drosophila melanogaster</i>. 2025. (Congresso). TOXILATIN, 2025, Porto Alegre. <i>Drosophila melanogaster</i> as alternative model to investigate the hepatotoxic effects of the herbicide bromacil. 2025. (Congresso). TOXILATIN, 2025, Porto Alegre. Alternative models in predictive toxicology to evaluate the effects of pesticides on the establishment of fatty liver diseases. 2025. (Congresso). Participação em Eventos (Ouvinte) WORKSHOP ON MELANOMA MODELS AND TRANSLATIONAL ONCOLOGY, 10., 2024, São Paulo. Participante. 2024. (Workshop). CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA (SBG), 69., 2024, Campos do Jordão. Participante. 2024. (Congresso). CONGRESSO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA ON-LINE (CONABION), 1., 2025, On-line. Participante. 2025. (Congresso). FLYPOWER MEETING, 2., 2025, Campinas. Participante. 2025. (Encontro Científico). CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA APLICADA, 5., 2025, On-line. Participante. 2025. (Congresso).

Minicursos Frequentados

CONGRESSO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA ON-LINE (CONABION), 1., 2025, On-line. Mini-curso: Predição tridimensional de proteínas por modelagem por homologia. 2025. (Congresso).

CONGRESSO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA ON-LINE (CONABION), 1., 2025, On-line. Mini-curso: Organismos geneticamente modificados: importância, aplicações e transportes. 2025. (Congresso).

CONGRESSO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA ON-LINE (CONABION), 1., 2025, On-line. Mini-curso: Cultivo de células eucariontes no desenvolvimento de fármacos. 2025. (Congresso).

CONGRESSO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA ON-LINE (CONABION), 1., 2025, On-line. Mini-curso: Nanoestruturas e biomoléculas: da teoria à prática em terapias e diagnósticos. 2025. (Congresso).

Dedico este trabalho ao meu primeiro cachorrinho, Maik, que partiu, mas deixou um amor puro e inesquecível. Seu companheirismo, carinho e lealdade marcaram minha vida de forma profunda. Mesmo não estando mais presente, sua memória permanece viva no meu coração e em cada conquista.

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, presente em todos os momentos e nas horas de angústia, fortalecendo-me e dando-me a força necessária para superar os desafios.

Agradeço ao meu pai Belarmino e à minha mãe Cristiane, que não mediram esforços para que eu pudesse chegar até esta etapa da minha vida. Seu amor, apoio e dedicação foram fundamentais para o meu crescimento e sucesso acadêmico.

Ao meu noivo Murilo Augusto, agradeço imensamente por tudo, pelo presente que estamos vivendo e pelo futuro que vamos construir juntos, e pela nossa família com o Fred e o Tuti e nossos diversos peixinhos.

Expresso minha gratidão à minha orientadora Karen Cristiane, pelo ensinamento, apoio e instrução. Ela me acolheu e demonstrou imensa paciência, dedicação e sabedoria ao me guiar durante todo o processo de elaboração deste trabalho. Suas orientações valiosas e seu apoio constante foram essenciais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Agradeço também às minhas amigas Amanda, Ana Caroline, Bianca, Fernanda e Rafaela, cujo incentivo e apoio foram fundamentais ao longo desses anos. A amizade e a companhia que compartilhamos foram essenciais para superar os desafios acadêmicos, proporcionando momentos de alegria, aprendizado e crescimento mútuo.

Gostaria de expressar minha gratidão aos colegas do Laboratório de Sinalização Celular e Expressão Gênica (LaSCEG). Sua presença, apoio, experiência e união foram fundamentais para o meu desenvolvimento acadêmico. A convivência diária e o compartilhamento de conhecimento foram enriquecedores e contribuíram para a minha formação como pesquisadora.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro concedido por meio do Processo nº 2022/06302-8.

“Nada na vida deve ser temido, apenas
compreendido. Agora é hora de
compreender mais, para temer menos.”

(Curie, 1933)

RESUMO

A crescente incidência de distúrbios metabólicos associados à doença hepática gordurosa tem ampliado o interesse pelos efeitos de contaminantes ambientais sobre a homeostase energética. Entre esses contaminantes, os herbicidas derivados de uracila, terbacil e bromacil, destacam-se pela ampla utilização agrícola e persistência ambiental. Este estudo investigou os efeitos desses pesticidas sobre parâmetros metabólicos, bioquímicos e comportamentais, utilizando *Drosophila melanogaster* como modelo experimental. Foram avaliados os níveis de glicose e triglicerídeos, a sobrevivência por meio do tempo letal médio (TL₅₀), o comportamento de ingestão alimentar (*food intake*), além de parâmetros bioquímicos associados à função mitocondrial e aos sistemas de defesa celular. Também foi analisada a expressão de genes relacionados à resposta antioxidante e à detoxificação. Os resultados indicaram que a exposição crônica ao terbacil e ao bromacil promoveu alterações no metabolismo energético, caracterizadas por acúmulo de triglicerídeos, variações nos níveis de glicose, alterações na ingestão alimentar e efeitos dependentes da concentração e do sexo na sobrevivência, evidenciando toxicidade em condições subletais. Em conjunto, os dados confirmam a relevância de *Drosophila melanogaster* como modelo para a avaliação de efeitos metabólicos de contaminantes ambientais.

Palavras-chave: toxicologia ambiental; metabolismo energético; pesticidas; *Drosophila melanogaster*.

ABSTRACT

The rising prevalence of metabolic disorders linked to fatty liver disease has sparked greater interest in the impact of environmental contaminants on energy homeostasis. Uracil-derived herbicides, such as terbacil and bromacil, are of particular interest due to their widespread agricultural use and environmental persistence. This study examined the impact of these pesticides on metabolic, biochemical, and behavioral parameters using *Drosophila melanogaster* as an experimental model. We evaluated glucose and triglyceride levels, assessed survival via median lethal time (LT₅₀), feeding behavior (food intake), and biochemical parameters related to mitochondrial function and cellular defense systems. We also performed gene expression analysis of pathways involved in the antioxidant response and xenobiotic detoxification. The results revealed that chronic exposure to terbacil and bromacil induced alterations in energy metabolism, including triglyceride accumulation, altered glucose levels, and changes in feeding behavior. Additionally, there were sex and concentration dependent effects on survival, indicating toxicity under sublethal conditions. Overall, the data support the relevance of *D. melanogaster* as a model for assessing the metabolic effects of environmental contaminants.

Keywords: environmental toxicology, energy metabolism, pesticides, *Drosophila melanogaster*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Progressão da doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica (MASLD). Representação esquemática das principais etapas evolutivas da doença: fígado saudável, esteatose, esteato-hepatite, cirrose e carcinoma hepatocelular. As setas indicam o sentido da progressão e as fases reversíveis.19
- Figura 2** - Estrutura químicas de Uracila, Bromacil e Terbacil.23
- Figura 3** - Esquema ilustrativo do ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*, composto pelas fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulta. O ciclo completo ocorre em aproximadamente 10-15 dias a 25 °C, caracterizado pela elevada taxa reprodutiva e rápido desenvolvimento.27
- Figura 4** - Comparação ilustrativa entre órgãos de *Drosophila melanogaster* e órgãos humanos, destacando homólogos funcionais nos sistemas nervoso, circulatório, excretor, digestório e adiposo.28
- Figura 5** - Mensuração dos níveis de triglicerídeos em pré-pupas de Canton-S. Ovos foram desenvolvidos em dietas contendo diferentes concentrações dos pesticidas Bromacil (Figura 5a) e Terbacil (Figura 5b). A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$45
- Figura 6** - Mensuração dos níveis de glicose em pré-pupas de Canton-S. Ovos foram desenvolvidos em dietas contendo diferentes concentrações dos pesticidas Bromacil (Figura 6a) e Terbacil (Figura 6b). A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$46
- Figura 7** - Mensuração dos níveis de triglicerídeos em machos adultos de Canton-S submetidos a 15 dias de exposição ao bromacil (Figura 7a) e terbacil (Figura 7b) contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$49
- Figura 8** - Mensuração dos níveis de glicose em machos adultos de Canton-S submetidos a 15 dias de exposição ao bromacil (Figura 8a) e terbacil (Figura 8b)

contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$50

Figura 9 - Mensuração dos níveis de triglicerídeos em fêmeas adultas de Canton-S submetidas a 15 dias de exposição ao bromacil (Figura 9a) e terbacil (Figura 9b) contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$51

Figura 10 - Mensuração dos níveis de glicose em fêmeas adultas de Canton-S submetidas a 15 dias de exposição ao bromacil (Figura 10a) e terbacil (Figura 10b) contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$52

Figura 11 - Seleção das concentrações experimentais. Representação das concentrações de 5 μM e 5 nM selecionadas para as análises posteriores, com base em relevância ambiental e resposta metabólica significativa. One-Way ANOVA com pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$53

Figura 12 - Alterações comportamentais machos adultos de *Drosophila melanogaster*. Os gráficos mostram a intensidade dos sintomas ao longo dos dias de exposição (eixo x), classificada em escala semiquantitativa de 0 a 3 (eixo y): 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = intenso. O painel (a) representa a progressão geral dos sintomas; os painéis (b) e (c) correspondem, respectivamente, a tremor e desequilíbrio. As linhas indicam os grupos controle, bromacil 5 μM , terbacil 5 nM e terbacil 5 μM55

Figura 13 - Alterações comportamentais em fêmeas adultas de *Drosophila melanogaster* após exposição crônica a bromacil e terbacil. Os gráficos mostram a intensidade dos sintomas ao longo dos dias de exposição (eixo x), classificada em escala semiquantitativa de 0 a 3 (eixo y): 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = intenso. O painel (a) representa a progressão geral dos sintomas; os painéis (b) e (c) correspondem, respectivamente, a tremor e desequilíbrio. As linhas indicam os grupos controle, bromacil 5 μM , terbacil 5 nM e terbacil 5 μM56

Figura 14 - Curvas de sobrevivência de machos e fêmeas de *Drosophila melanogaster* expostos cronicamente aos herbicidas bromacil e terbacil. O painel (a)

representa as fêmeas e o painel (b) os machos. O eixo x indica os dias de exposição e o eixo y o número de moscas vivas (n = 120 por grupo). A linha vermelha corresponde ao grupo controle, a linha verde ao bromacil 5 µM, a linha roxa ao terbacil 5 nM e a linha azul-claro ao terbacil 5 µM. A linha horizontal preta indica o ponto de TL₅₀ (50% de sobrevivência; 60 moscas).....58

Figura 15 - Avaliação da ingestão alimentar (*food intake*) em *Drosophila melanogaster* após exposição aos herbicidas bromacil (Figura 15a) e terbacil (Figura 15b). Diferenças estatísticas foram determinadas por One-Way ANOVA com pós-teste de Dunnett.* p < 0,05.60

Figura 16 - Mensuração dos níveis de GSH em machos adultos virgens da linhagem Canton-S. Os indivíduos foram mantidos sob dieta contendo os pesticidas bromacil e terbacil a 5 µM or um intervalo de 15 dias de. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * p<0,05.....63

Figura 17 - Mensuração dos níveis de GSH em fêmeas adultas de Canton-S. Submetidas a 15 dias de exposição ao bromacil e terbacil contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * p<0,05.64

Figura 18 - Mensuração dos níveis de LDH em machos adultos de Canton-S. Submetidas a 15 dias de exposição ao bromacil e terbacil contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * p<0,05.66

Figura 19 - Mensuração dos níveis de LDH em fêmeas adultas de Canton-S. Submetidas a 15 dias de exposição ao bromacil e terbacil contendo diferentes concentrações. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * p<0,05.66

Figura 20 - Atividade enzimática da citrato sintase (CS) em machos adultos de *D. melanogaster* submetidas por 15 dias à exposição à bromacil e terbacil. Atividade expressa em atividade enzimática por minuto normalizada pela quantidade de proteína (U/min/mg). A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * p < 0,05.....68

Figura 21 - Atividade enzimática da enzima citrato sintase (CS) em fêmeas adultas de *D. melanogaster* submetidas por 15 dias à exposição à bromacil e terbacil. Atividade expressa em atividade enzimática por minuto normalizada pela quantidade de proteína (U/min/mg). análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$70

Figura 22 - Análise da expressão dos genes antioxidantes *sod*, *por*, *gpx* e *cat* em machos adultos de *D. melanogaster*, submetidos por 15 dias à exposição aos herbicidas bromacil e terbacil. A expressão gênica foi avaliada por PCR convencional, com os produtos amplificados visualizados por eletroforese em gel de agarose e comparados qualitativamente em relação ao grupo controle. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$71

Figura 23 - Análise da expressão dos genes antioxidantes *sod*, *por*, *gpx* e *cat* em fêmeas adultas de *D. melanogaster*, submetidos por 15 dias à exposição aos herbicidas bromacil e terbacil. A expressão gênica foi avaliada por PCR convencional, com os produtos amplificados visualizados por eletroforese em gel de agarose e comparados qualitativamente em relação ao grupo controle. A análise estatística foi realizada utilizando o teste One-Way ANOVA com o pós-teste de Dunnett. * $p < 0,05$72

Figura S1 1 - Níveis de triglicerídeos (TG) e glicose (GL) em adultos virgens machos e fêmeas de *Drosophila melanogaster* após 10 dias de exposição aos herbicidas bromacil e terbacil, nas concentrações indicadas. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida do teste de Dunnett, utilizando o grupo controle como referência. Diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle estão indicadas ($p < 0,05$). As alterações observadas foram discretas e de baixa magnitude, compatíveis com respostas metabólicas iniciais a exposições de curta duração, motivo pelo qual os dados são apresentados como Resultados Suplementares.85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Informações toxicológicas e ambientais dos pesticidas utilizados.	31
Tabela 2 - Concentrações testadas de bromacil e terbacil utilizadas no preparo de dietas para experimentação com <i>Drosophila melanogaster</i>	32
Tabela 3 - Sequência de oligonucleotídeos utilizados nas reações de polimerização em cadeia.	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3Rs	<i>Replacement, Reduction and Refinement</i>
AMPK	<i>Activated protein kinase</i> (Proteína quinase ativada por AMP)
AOP	<i>Adverse outcome pathways</i> (via de sinalização adversa)
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i> (Trifosfato de adenosina)
BOD	Biochemical Oxygen Demand
Cdna	DNA complementar
CS	Enzima Citrato Sintase
DRP1	<i>Dynamin-Related Protein 1</i>
GL	Glicose
GSH	Glutathiona reduzida
IDA	Ingestão diária aceitável
LDH	Enzima desidrogenase láctica
LDN	Vias de lipogênese de novo
LPS	Lipopolissacarídeos
MASH	Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis
MASLD	Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease
MFN2	Mitofusin 2
PCR	Reações de polimerização em cadeia
PPAR α	<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha</i> (Receptor Alfa Ativado por Proliferadores de Peroxissomas)
ROS	Espécies reativas ao oxigênio
SIRT1 e SIRT3	Sirtuínas
TAFLD	<i>Toxicant-Associated Fatty Liver Disease</i> (Doença Hepática Gordurosa Associada a Contaminantes)
TCA	Ciclo do ácido cítrico
TG	Triglicerídeos
TL	Tempo Letal
TNB	Complexo amarelo 5-tio-2-nitrobenzoato
UA	Unidades relativas de absorbância

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	A DOENÇA HEPÁTICA GORDUOSA ASSOCIADA À DISFUNÇÃO METABÓLICA EM CENÁRIOS CONTEMPORÂNEOS: UMA VISÃO INTEGRADA ENTRE METABOLISMO, TOXICOLOGIA E SAÚDE PÚBLICA	17
1.2	HERBICIDAS DERIVADOS DE URACILA: IMPACTOS AMBIENTAIS E CONSEQUÊNCIAS HEPÁTICAS	21
1.3	UTILIZAÇÃO DE <i>Drosophila melanogaster</i> COMO MODELO EXPERIMENTAL.....	25
2	OBJETIVOS	29
2.1	OBJETIVO GERAL	29
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1	CULTURA DE <i>Drosophila melanogaster</i>	30
3.3	DETERMINAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE <i>Drosophila melanogaster</i> ADULTAS NAS CONCENTRAÇÕES DOS PESTICIDAS ANALISADAS.....	32
3.4	AVALIAÇÃO DA INGESTÃO ALIMENTAR (<i>Food intake</i>)	34
3.5	ENSAIOS BIOQUÍMICOS	36
3.5.1	Quantificação de triglicerídeos e glicose	36
3.5.2	Atividade da enzima desidrogenase láctica (LDH)	37
3.5.3	Extração de proteínas e ensaio de atividade de citrato sintase	38
3.6.1	Glutathione reduzida (GSH)	39
3.6	ANÁLISE DE EXPRESSÃO DE GENES	40
3.6.1	Extração de RNA total.....	40
3.6.2	Transcrição reversa de RNA total	41
3.6.3	Reações de polimerização em cadeia (PCR) semiquantitativa.....	42
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM PRÉ-PUPAS	44
4.1.1	Perfil bioquímico de triglicerídeos (TG) e glicose (GL)	44

4.2	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM ADULTOS	47
4.2.1	Perfil bioquímico de triglicerídeos (TG) e glicose (GL)	47
4.2.2	Determinação da sobrevivência de <i>Drosophila melanogaster</i> adultas nas concentrações dos pesticidas analisadas.....	53
4.2.4	Glutathione reduzida (GSH)	62
4.2.5	Atividade da lactato desidrogenase (LDH)	64
4.2.6	Atividade de citrato sintase (CS).....	67
4.2.7	Análise de expressão de genes	70
5	CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS		Erro! Indicador não definido.
APÊNDICE A – RESULTADOS SUPLEMENTARES.....		85

1 INTRODUÇÃO

1.1 A DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA ASSOCIADA À DISFUNÇÃO METABÓLICA EM CENÁRIOS CONTEMPORÂNEOS: UMA VISÃO INTEGRADA ENTRE METABOLISMO, TOXICOLOGIA E SAÚDE PÚBLICA

O fígado é uma glândula vital e multifuncional, responsável por tarefas fundamentais para a homeostase do organismo, como a metabolização de macronutriente, a desintoxicação de compostos xenobióticos, a regulação hormonal, além de exercer papel ativo na resposta imune e no armazenamento de vitaminas e minerais (ISAACS, 2023; LU *et al.*, 2022). Além disso, o fígado atua na regulação da glicemia, na síntese de proteínas plasmáticas e na produção de bile, destacando seu papel central no metabolismo energético e na integração com outros órgãos, como o pâncreas e o tecido adiposo (HSU; SCHNABL, 2023; LI *et al.*, 2025; SHEN *et al.*, 2022).

A arquitetura hepática é composta por diferentes tipos celulares, incluindo hepatócitos, células de Kupffer, células estreladas hepáticas, células endoteliais sinusoidais e células dendríticas, que desempenham funções complementares na regulação metabólica e imunológica do órgão (FRIEDMAN, 2011). Essa complexa rede funcional assegura o equilíbrio entre processos anabólicos e catabólicos, além de atuar na regeneração hepática e na resposta a lesões químicas ou infecciosas (SEN *et al.*, 2022).

O metabolismo energético hepático é sustentado por uma complexa rede de vias interdependentes, incluindo glicólise, ciclo do ácido cítrico (TCA), fosforilação oxidativa e β -oxidação de ácidos graxos. A disfunção em qualquer uma dessas etapas compromete o balanço entre produção e consumo de ATP, resultando em estresse energético celular. Diversos pesticidas, especialmente os de base uracila e organoclorados, nos seres humanos expostos aos pesticidas são capazes de interferir diretamente na função mitocondrial, promovendo desacoplamento da fosforilação oxidativa, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (CHEN *et al.*, 2025; GUO *et al.*, 2025; MOLICA, 2025). Esse processo conduz a um ambiente celular deletério, favorecendo o acúmulo de lipídeos. Considerando-se o papel dos pesticidas na funcionalidade mitocondrial, esses compostos também podem atuar na perda da integridade da membrana mitocondrial interna e à alteração da dinâmica mitocondrial. Processos mediados por proteínas como DRP1

e MFN2, resultando em mitocôndrias fragmentadas e metabolicamente disfuncionais (LOLESCU, 2025; CHEN *et al.*, 2025). Essas modificações nas mitocôndrias acarretam na redução da capacidade de β -oxidação, favorecendo o acúmulo de ácidos graxos e o desenvolvimento de esteatose hepática. Todas essas modificações acarretam gerações excessivas de ROS, ativando vias pró-inflamatórias e promovendo desbalanço da homeostase celular e tecidual, o que contribui para o estabelecimento de quadros metabólicos deletérios e progressão da doença hepática esteatótica (CHEN *et al.*, 2023; ANONYMOUS, 2025).

Dada sua complexidade funcional e exposição a agentes deletérios, o fígado é altamente suscetível a diversas patologias, que inicialmente se caracterizam pelo acúmulo de gorduras em porcentagens $\geq$ a 5% do peso do órgão (YOUNOSSI; MARKOS KALLIGEROS; HENRY, 2024). Esse quadro patológico é também conhecido como esteatose e a doença hepática esteatótica associada à disfunção metabólica (do inglês, *metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease* – MASLD) tem ganhado destaque como um desafio crescente para os sistemas de saúde ao redor do mundo (FENG *et al.*, 2024).

A MASLD, que engloba quadros de esteatose hepática, é uma patologia de etiologia diversa. Vários fatores contribuem para o seu aparecimento como hábitos alimentares inapropriados, obesidade, sedentarismo, genética, doenças do metabolismo, vírus, entre outros (YOUNOSSI *et al.*, 2023; BYRNE *et al.*, 2025). O diagnóstico precoce da MASLD é complexo, pois muitos indivíduos permanecem assintomáticos nas fases iniciais, e frequentemente a doença é detectada em exames de imagem ou alterações bioquímicas hepáticas, muitas vezes em estado avançado (HABIBULLAH *et al.*, 2024; PATEL, 2025). Do ponto de vista metabólico, o fígado também atua como órgão central na regulação de AMPK, SIRT1 e PPAR α — sensores energéticos que coordenam a biogênese mitocondrial e o metabolismo lipídico. A exposição a contaminantes ambientais pode inibir a atividade da AMPK, reduzindo a oxidação de ácidos graxos e aumentando a lipogênese de novo, além de prejudicar o funcionamento das sirtuínas (SIRT1 e SIRT3), responsáveis por manter a homeostase redox. Essa inibição resulta em acúmulo de triglicerídeos, inflamação e resistência à insulina hepática, eventos-chave na progressão da MASLD (ANONYMOUS, 2025; GUO *et al.*, 2025).

Mundialmente, estima-se que mais de 38% da população adulta seja afetada pela MASLD, o que a torna atualmente a doença hepática crônica mais comum

(TARANTINO *et al.*, 2023). O impacto socioeconômico da MASLD é significativo, pois os custos com diagnóstico, tratamento e complicações hepáticas avançadas aumentam a pressão sobre os sistemas de saúde, além de afetar a produtividade laboral e a qualidade de vida dos indivíduos (YOUNOSSI; MARKOS KALLIGEROS; HENRY, 2024).

Uma das complicações da patologia se associa à progressão a quadros mais deletérios. A esteatose pode evoluir para a esteato-hepatite associada à disfunção metabólica (do inglês, metabolic dysfunction-associated steatohepatitis – MASH), fibrose hepática, cirrose e, em estágios mais avançados, carcinoma hepatocelular (Figura 1) (ARMSTRONG; GUO, 2019; KIM *et al.*, 2025; RINELLA *et al.*, 2022).

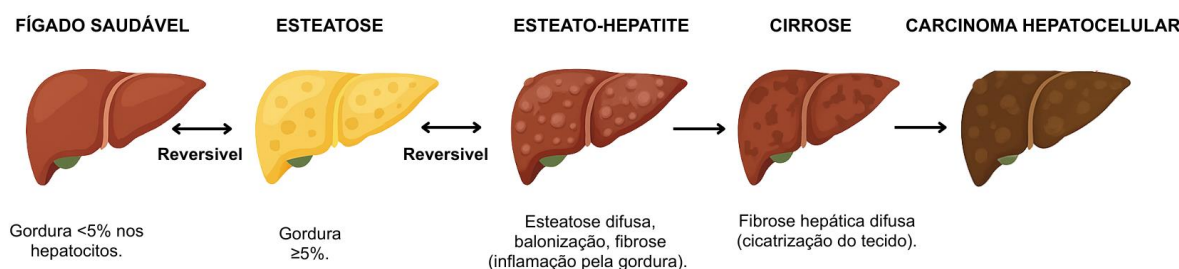


Figura 1 - Progressão da doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica (MASLD). Representação esquemática das principais etapas evolutivas da doença: fígado saudável, esteatose, esteato-hepatite, cirrose e carcinoma hepatocelular. As setas indicam o sentido da progressão e as fases reversíveis.

Fonte: Adaptado pela autora de CHHIMWAL; PATIAL; PADWAD (2021).

Estudos recentes reforçam que a inflamação crônica hepática, mediada por citocinas pró-inflamatórias e pela ativação de vias de estresse oxidativo, é um dos principais determinantes da progressão da doença e da fibrose (CIAULA *et al.*, 2021; GAYBAN *et al.*, 2023; KIM *et al.*, 2025). Além disso, a disfunção mitocondrial e o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) estabelecem um ciclo vicioso de dano celular e inflamação, comprometendo a capacidade de regeneração hepática (KHARE *et al.*, 2025; LI *et al.*, 2025; SEN *et al.*, 2022).

A interação entre microbiota intestinal e fígado (eixo intestino-fígado) tem sido reconhecida como um fator crítico na modulação da MASLD (HSU; SCHNABL, 2023), uma vez que a disbiose intestinal pode alterar a permeabilidade da mucosa e facilitar a translocação de lipopolissacarídeos (LPS), intensificando a resposta inflamatória hepática (RINELLA *et al.*, 2022; PAROLA; PINZANI, 2024). Essa

relação simbiótica entre microbiota e metabolismo hepático também tem sido alvo de novas abordagens terapêuticas.

Assim, considerando-se os diversos fatores que colaboram com o estabelecimento e progressão de quadros de doenças hepáticas, os contaminantes ambientais, como os pesticidas são considerados como agentes deletérios da saúde do fígado e que podem colaborar com o aparecimento de quadros de esteatose e sua progressão a quadros mais deletérios (AN *et al.*, 2025; BEIER *et al.*, 2025; VORNOLI *et al.*, 2022). Atualmente, a toxicologia ambiental moderna tem concentrado esforços na elucidação dos mecanismos moleculares relacionados à hepatotoxicidade induzida por xenobióticos (FESHUK *et al.*, 2023). No contexto brasileiro, o uso intensivo de pesticidas – amparado por uma legislação permissiva – eleva o risco populacional, especialmente em regiões agrícolas (LEIVAS *et al.*, 2021). Os pesticidas do grupo das uracilas substituídas, como o bromacil e o terbacil, têm ganhado destaque por seu caráter persistente e bioacumulativo (HENDERSON *et al.*, 2021). Esses compostos apresentam alta estabilidade química, meia-vida prolongada e lenta degradação ambiental, acumulando-se em solos e águas e atingindo organismos não alvo, inclusive humanos (DEER, 2004; EPA, 2023). A exposição contínua, mesmo em baixos níveis, tem sido associada a alterações epigenéticas e metabólicas no fígado, favorecendo o estabelecimento da chamada doença hepática gordurosa associada a contaminantes tóxicos (TAFLD, na sigla em inglês) (LIU *et al.*, 2024; SEN *et al.*, 2022).

Bases de dados como o ToxRefDB têm demonstrado que aproximadamente 44% dos pesticidas avaliados em modelos experimentais estão associados a alterações hepáticas, reforçando a necessidade de estudos aprofundados sobre seus efeitos em baixos níveis de exposição (EPA, 2023; FESHUK *et al.*, 2023). A utilização de modelos experimentais alternativos, como *Drosophila melanogaster*, tem permitido a investigação desses efeitos em nível molecular e fisiológico, representando uma ferramenta de alta reprodutibilidade e relevância translacional (AYOMIDE VICTOR ATOKI *et al.*, 2024; MORAES; MONTAGNE, 2021; PANG *et al.*, 2023; RAND *et al.*, 2023).

Além disso, a integração de dados toxicológicos com informações clínicas e epidemiológicas permite mapear populações de risco e desenvolver políticas preventivas mais efetivas. Investigações focadas em receptores nucleares, vias de lipogênese de novo (LDN), β -oxidação, mecanismos epigenéticos e rotas de

sinalização associadas a desfechos adversos (AOPs) têm sido promissoras na identificação de biomarcadores de toxicidade hepática e na construção de modelos preditivos de risco (AL ABOUD *et al.*, 2022; LICHTENSTEIN *et al.*, 2020, 2021).

A compreensão dessas interações é crucial para a construção de políticas públicas voltadas à regulação do uso de agrotóxicos e à proteção da saúde humana. Além disso, o estudo dos mecanismos celulares associados à disfunção lipídica induzida por pesticidas pode oferecer subsídios para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e preventivas, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida e a sustentabilidade dos sistemas de saúde (AN *et al.*, 2025; LI *et al.*, 2025).

Por fim, a abordagem integrada entre toxicologia, metabolismo hepático e saúde pública representa um caminho promissor para a prevenção e manejo da MASLD e de suas formas associadas a contaminantes ambientais, reforçando a necessidade de estratégias multidisciplinares e colaborativas na pesquisa científica. A identificação e o mapeamento de rotas de sinalização adversas (*adverse outcome pathways* – AOPs) constituem um avanço importante, pois permitem conectar a exposição química aos desfechos toxicológicos de forma mecanística e preditiva (CIAULA *et al.*, 2021; KHARE *et al.*, 2025).

1.2 HERBICIDAS DERIVADOS DE URACILA: IMPACTOS AMBIENTAIS E CONSEQUÊNCIAS HEPÁTICAS

O uso de pesticidas é amplamente difundido na agricultura, especialmente para o controle de pragas, com o objetivo de aumentar a produtividade das culturas. No Brasil, a utilização de pesticidas se intensificou a partir da década de 1960, colocando o país entre os maiores consumidores globais dessas substâncias (SHARMA *et al.*, 2020; MOLICA *et al.*, 2021). Esses compostos são classificados conforme o tipo de organismo que controlam — como inseticidas, herbicidas e fungicidas — além de serem agrupados por famílias químicas, como organoclorados, carbamatos e triazinas (SHARMA *et al.*, 2020; MOLICA *et al.*, 2021).

Entretanto, muitos desses pesticidas podem ser tóxicos para organismos não-alvo e tendem a se bioacumular no ambiente e nos tecidos dos seres vivos, representando uma séria preocupação sanitária e ecológica (DJEKKOUN *et al.*, 2021). No Brasil, a elevada permissividade regulatória associada ao uso de

agrotóxicos agrava o risco de contaminação de solos, águas superficiais e lençóis freáticos, afetando diretamente ecossistemas aquáticos e a segurança alimentar (LEIVAS *et al.*, 2021; ROSA *et al.*, 2021). Além disso, diversos estudos indicam que esses compostos podem interferir em cadeias tróficas completas, levando à biomagnificação — processo em que a concentração de pesticidas aumenta progressivamente em níveis mais altos da cadeia alimentar, atingindo inclusive o ser humano (KAUR *et al.*, 2024).

Uma importante via de exposição humana ocorre pela ingestão de alimentos e água contaminados, que frequentemente contêm resíduos de pesticidas não degradados e/ ou seus metabólitos (LASCH *et al.*, 2021). Estudos recentes têm mostrado que a exposição crônica, mesmo em baixas doses, pode induzir estresse oxidativo, inflamação e alterações mitocondriais em tecidos hepáticos (SILVA *et al.*, 2023; PEREIRA *et al.*, 2024). Essa exposição contínua seja direta (em trabalhadores rurais) ou indireta (via cadeia alimentar), tem sido associada a doenças crônicas como câncer, distúrbios metabólicos e doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica (MASLD) (SHARMA *et al.*, 2020; SEN *et al.*, 2022; ALMEIDA *et al.*, 2022). Além disso, há evidências de que a exposição materna a contaminantes ambientais durante a gestação pode favorecer o desenvolvimento precoce de esteatose hepática em crianças, sugerindo que mecanismos epigenéticos desempenham papel crucial nesses processos (STRATAKIS *et al.*, 2020; STEVANOVIĆ-SILVA *et al.*, 2022).

Entre os pesticidas utilizados, os herbicidas à base de uracila destacam-se pelo uso recorrente no controle de plantas daninhas, contribuindo para a produtividade agrícola (SHARMA *et al.*, 2020; KAUR *et al.*, 2024). No entanto, esses compostos apresentam alta persistência ambiental devido à sua meia-vida longa e lenta degradação, o que favorece o acúmulo em solos e águas e aumenta o potencial de exposição prolongada (ZIMDAHL *et al.*, 1970; MADHUM e FREED, 1987; DEER, 2004; FISHEL, 2011). Monitoramentos ambientais recentes identificaram resíduos de terbacil (5-cloro-3-terc-butil-6-metiluracila) e bromacil (5-bromo-3-sec-butil-6-metiluracila) em ecossistemas aquáticos meses após sua aplicação, indicando risco de bioacumulação e biomagnificação (Figura 2) (ROSA *et al.*, 2021; GARCÍA-GARCÍA *et al.*, 2023). Esses herbicidas são amplamente empregados em plantações com grande relevância econômica no Brasil, o que agrava o impacto ambiental e sanitário de sua aplicação contínua (MIN *et al.*, 2023).

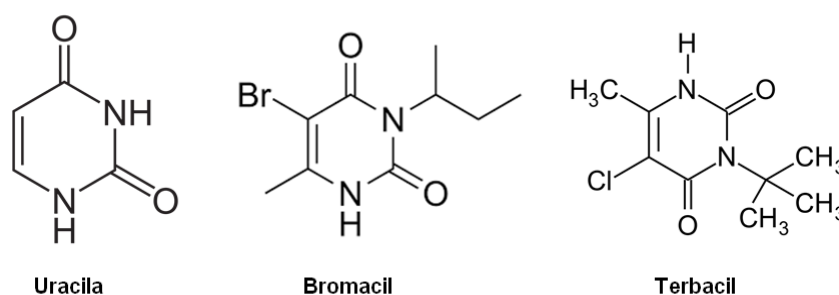


Figura 2 - Estrutura químicas de Uracila, Bromacil e Terbacil.

Fonte: PubChem (2025); YU *et al.*, 2024.

O bromacil, é um herbicida do grupo dos uracilos substituídos, com fórmula química $C_9H_{13}BrN_2O_2$. Ele foi inicialmente registrado como pesticida nos EUA em 1961 (PubChem, 2024). Empregado no controle de arbustos e gramíneas perenes em áreas não agrícolas, também tem uso seletivo contra plantas daninhas em culturas como abacaxi e cítricos. Sua ação baseia-se na interferência com a fotossíntese: absorvido pelas raízes, é translocado ao longo da planta, prejudicando o transporte eletrônico no fotossistema II (PUBCHEM, 2024; AERU, 2024). Esse pesticida é moderadamente solúvel em água, não volátil, tende à lixiviação e à persistência em diferentes ambientes, com potencial mobilidade até lençóis freáticos. Ele expressa toxicidade moderada para organismos aquáticos e uso restrito em algumas regiões (AERU/PPDB, 2024).

O terbacil é um composto organo halógeno integrante da classe das pirimidinas. Apresenta-se como cristais incolores e é relativamente estável. Absorvido principalmente pelas raízes, exerce ação herbicida seletiva sobre gramíneas anuais, plantas de folhas largas e certas espécies perenes (PUBCHEM, CID 22188). Sua aplicação é comum em fruteiras, alfafa e culturas de alto valor, permitindo o controle de espécies indesejadas sem comprometer a produtividade da cultura alvo (PUBCHEM, 2024). Além disso, o terbacil atua como inibidor da fotossíntese no fotossistema II, de modo semelhante a outros herbicidas da classe das uracilas, interrompendo o transporte de elétrons e reduzindo a capacidade fotossintética das plantas suscetíveis (CENTERS, 2025). Apresenta solubilidade moderada em água, baixa volatilidade e tendência à lixiviação, o que favorece sua mobilidade em solos arenosos e a possível contaminação de lençóis freáticos. Também possui persistência relativamente longa no ambiente, com meia-vida variável dependendo das condições de pH, umidade e matéria orgânica do solo

(UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE, 2025). Estudos ecotoxicológicos mostram que o terbacil pode afetar organismos não alvo, incluindo insetos, microrganismos do solo e espécies aquáticas, reforçando o interesse em modelos experimentais como *Drosophila melanogaster* para avaliação de seus efeitos metabólicos e tóxicos.

Embora alguns países tenham restringido ou proibido o uso desses herbicidas, no Brasil eles ainda são amplamente empregados desde a década de 1960, o que intensifica a preocupação com seus efeitos cumulativos (FISHEL, 2011). Esses compostos atuam por interferência no metabolismo de pirimidinas, em razão de sua semelhança estrutural com a uracila. Tal mecanismo compromete a fotossíntese de gramíneas e outras plantas parasitas, levando à morte das mesmas (ZIMDAHL, 2018). Essa similaridade estrutural também explica o potencial desses compostos de interagir com enzimas e transportadores celulares em organismos não vegetais, incluindo animais e humanos, alterando processos metabólicos essenciais (LE *et al.*, 2014; XIONG *et al.*, 2022).

A uracila, por sua vez, desempenha um papel essencial na síntese de ácidos nucleicos, no metabolismo de lipídios e na regulação de diversas vias bioquímicas (KAFFER *et al.*, 2004; XIONG *et al.*, 2022). No fígado, está envolvida na síntese de uridina, uma molécula reguladora de processos metabólicos e com efeito protetor contra disfunções hepáticas (JAIN; JACOBSON, 2022; ZHANG *et al.*, 2020). A uracila e seus derivados participam como reguladores alostéricos e coenzimas em reações que controlam o metabolismo energético e lipídico, sendo convertidas em uridina — etapa crucial para a manutenção da homeostase hepática (LE *et al.*, 2014). Estudos apontam que a uridina exerce efeitos protetores contra a hepatotoxicidade, além de modular positivamente o metabolismo lipídico, especialmente quando administrada juntamente com fármacos como o tamoxifeno (LE *et al.*, 2014; ZHANG Y. *et al.*, 2020). Por outro lado, interferências na biossíntese de pirimidinas — como as provocadas por herbicidas derivados de uracila — podem desencadear disfunções metabólicas hepáticas, incluindo acúmulo de triglicerídeos, inflamação e disfunção mitocondrial (WU *et al.*, 2021; PEREIRA *et al.*, 2024).

No organismo humano, a biossíntese de uridina é regulada principalmente pelo fígado e tecido adiposo, sendo o excesso excretado pelos rins ou metabolizado pelos tecidos (JAIN; JACOBSON, 2022). Fatores como dietas hipercalóricas, consumo excessivo de álcool e a exposição a contaminantes ambientais podem afetar as enzimas responsáveis pela metabolização da uridina. Isso pode

comprometer a homeostase do organismo e contribuir ainda mais para o desenvolvimento de doenças hepáticas, como a esteatose hepática. Pesquisas recentes também destacam o papel da uridina na modulação de acetiltransferases e desacetilases, enzimas diretamente envolvidas na regulação epigenética, o que reforça a conexão entre metabolismo energético e controle epigenético (LE *et al.*, 2013; MIN *et al.*, 2023). Portanto, a utilização descomedida de pesticidas uracilo-estruturados como bromacil e terbacil, podem favorecer o desenvolvimento de anomalias hepáticas.

Portanto, compreender as alterações no metabolismo energético induzidas por herbicidas derivados de uracila é fundamental para elucidar seus efeitos sistêmicos. Estudos recentes em modelos animais indicam que a exposição a esses compostos afeta não apenas o metabolismo hepático, mas também o equilíbrio energético sistêmico, promovendo alterações no eixo fígado-intestino e na microbiota intestinal, o que pode exacerbar a inflamação hepática e a disfunção metabólica.

Assim, torna-se essencial elucidar os mecanismos pelos quais os herbicidas derivados de uracila interferem nas vias de biossíntese de uridina, uma vez que essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de doenças hepáticas metabólicas. A investigação dessas interações pode ainda revelar novos biomarcadores moleculares de toxicidade hepática, auxiliando na formulação de estratégias preventivas e terapêuticas (SILVA *et al.*, 2023; PEREIRA *et al.*, 2024; MIN *et al.*, 2023).

1.3 UTILIZAÇÃO DE *Drosophila melanogaster* COMO MODELO EXPERIMENTAL

A crescente preocupação ética relacionada ao uso de animais vertebrados em pesquisa científica tem impulsionado o desenvolvimento de modelos experimentais alternativos, alinhados aos princípios dos 3Rs (*Replacement, Reduction and Refinement*). Nesse contexto, *Drosophila melanogaster* tem se destacado como uma ferramenta eficiente, versátil e de baixo custo na investigação de mecanismos toxicológicos, metabólicos, genéticos e fisiopatológicos (MORAES; MONTAGNE, 2021; PANG *et al.*, 2023). A espécie apresenta características que a tornam particularmente atrativa para estudos biomédicos, como a conservação de vias

metabólicas com humanos, rápido ciclo de vida, alta fecundidade, facilidade de manutenção e ampla disponibilidade de linhagens mutantes e transgênicas. Mais recentemente, avanços em ferramentas genéticas — como CRISPR-Cas9 de alta precisão, sistemas de RNAi tecido-específicos e técnicas de edição epigenômica — ampliaram ainda mais sua aplicabilidade em pesquisas envolvendo mecanismos de toxicidade (NAGARKAR-JAISWAL *et al.*, 2023; BROUWER *et al.*, 2024).

Além disso, o uso de *Drosophila* permite a manipulação genética altamente controlada, possibilitando o silenciamento ou superexpressão de genes específicos para investigar funções celulares, vias metabólicas conservadas e processos de detoxificação. Essa versatilidade torna o organismo um dos modelos mais eficientes para estudar mecanismos biológicos complexos de forma reprodutível e com baixo custo experimental.

Pertencente ao gênero *Drosophila* e à família Drosophilidae, *D. melanogaster* é uma espécie de díptero holometábolo, passando pelas fases de ovo, três estágios larvais, pupa e adulto. O ciclo de vida completo pode variar entre 8 e 12 dias em condições ideais de laboratório (25°C), o que permite a realização de experimentos de curto prazo e análises multigeracionais em períodos reduzidos. Essa velocidade, aliada à alta taxa reprodutiva - com fêmeas produzindo centenas de descendentes por postura - viabiliza estudos em toxicologia ambiental, genética, metabolismo, biologia do desenvolvimento e epigenética (Figura 3) (MARKOW, 2015; SCHNORR; JIN, 2021). Essa característica também facilita a avaliação de efeitos tóxicos cumulativos, permitindo acompanhar mudanças fisiológicas e moleculares ao longo de ciclos completos de vida. Isso é especialmente útil para estudos que buscam compreender como substâncias químicas alteram o desenvolvimento, a fisiologia metabólica e a homeostase celular em diferentes fases ontogenéticas.

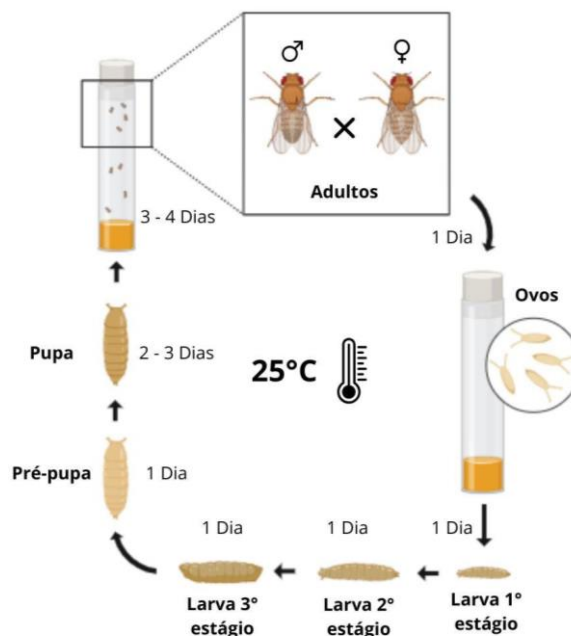


Figura 3 - Esquema ilustrativo do ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*, composto pelas fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulta. O ciclo completo ocorre em aproximadamente 10-15 dias a 25 °C, caracterizado pela elevada taxa reprodutiva e rápido desenvolvimento.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor no CANVA (2025).

A utilização do modelo tem sido validada para uma ampla gama de patologias humanas, incluindo obesidade, resistência à insulina, doenças metabólicas, distúrbios neurodegenerativos, esteatose hepática e doenças cardiovasculares. Evidências recentes demonstram que a exposição de *Drosophila* a xenobióticos ambientais, como herbicidas, inseticidas, metais pesados e poluentes emergentes, induz alterações comportamentais, bioquímicas, moleculares, metabólicas e epigenéticas, sendo um modelo eficiente para triagens toxicológicas de alta precisão (LIANG *et al.*, 2023). Adicionalmente, estima-se que mais de 75% dos genes associados a doenças humanas possuem ortólogos em *D. melanogaster*, reforçando sua aplicabilidade translacional (Figura 4). A conservação de vias metabólicas — como insulín/IGF, TOR, AMPK, JAK/STAT, Notch, Hedgehog e Wnt — torna o modelo extremamente relevante para a compreensão dos efeitos sistêmicos de contaminantes ambientais (REITER *et al.*, 2001; UGUR; CHEN; BORDEY, 2016).

Essa conservação funcional permite que respostas observadas nas *Drosophila* sejam extrapoladas para sistemas biológicos mais complexos, contribuindo para a identificação de mecanismos patológicos e potenciais biomarcadores de toxicidade. Além disso, sua fisiologia relativamente simples permite o isolamento rápido de tecidos equivalentes, como o corpúsculo gorduroso

— análogo ao fígado e ao tecido adiposo humano — facilitando estudos direcionados em metabolismo energético e homeostase lipídica.

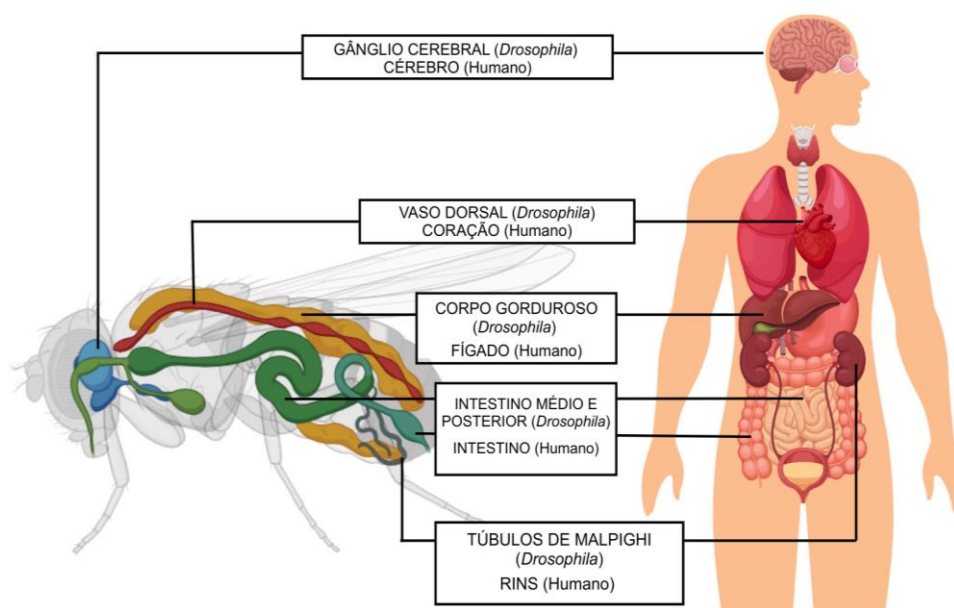


Figura 4 - Comparação ilustrativa entre órgãos de *Drosophila melanogaster* e órgãos humanos, destacando homólogos funcionais nos sistemas nervoso, circulatório, excretor, digestório e adiposo.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor no CANVA (2025).

A capacidade de analisar todos os estágios do desenvolvimento, do embrião ao adulto, permite avaliar efeitos agudos, subcrônicos, crônicos e multigeracionais da exposição a contaminantes. A disponibilidade de marcadores moleculares e metabólicos torna possível o rastreo de vias de estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, alterações lipídicas, danos ao DNA, respostas inflamatórias, bem como modificações epigenéticas (como acetilação e metilação de histonas) associadas à toxicidade metabólica. Além disso, a ampla disponibilidade de linhagens repórteres fluorescentes e de sondas moleculares permite monitorar em tempo real processos celulares como apoptose, regeneração tecidual, acúmulo de lipídios e variações no metabolismo energético. Esses recursos transformam a *Drosophila* em um sistema extremamente sensível para detectar alterações fisiológicas sutis e compreender como diversos contaminantes afetam rotas metabólicas, sistemas de defesa antioxidante e vias regulatórias conservadas.

Assim, o presente trabalho propõe o uso de *Drosophila melanogaster* como modelo alternativo para avaliar os impactos toxicológicos dos pesticidas bromacil e terbacil, com foco em alterações no metabolismo energético, homeostase lipídica, estresse oxidativo e regulação epigenética relacionadas a doenças hepáticas

gordurosas não alcoólicas. Essa abordagem não só contribui para a compreensão dos efeitos de contaminantes ambientais, como também reforça a importância de modelos não vertebrados na toxicologia e na biomedicina, promovendo pesquisa alinhada às boas práticas éticas e aos princípios dos 3Rs. Dessa forma, o modelo oferece uma combinação única de rapidez experimental, relevância biológica e precisão analítica, permitindo que estudos toxicológicos sejam conduzidos com alta eficiência e profundidade mecanística. A consolidação de *Drosophila* como ferramenta-chave na toxicologia moderna reflete sua capacidade de fornecer respostas robustas e integrativas, essenciais para o avanço do conhecimento sobre como agentes químicos interferem na biologia e no metabolismo dos organismos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos adversos dos pesticidas terbacil e bromacil nos processos moleculares, bioquímicos e comportamentais no modelo *Drosophila melanogaster*, correlacionando esses efeitos com alterações metabólicas associadas à toxicidade induzida por pesticidas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Mensurar metabólitos energéticos tais como os níveis glicolíticos e de triglicerídeos em diferentes fases de desenvolvimento.
- b) Determinar a TL50 dos pesticidas terbacil e bromacil em *Drosophila melanogaster* para avaliar seus efeitos no ciclo de vida da mosca adulta.
- c) Analisar o impacto da exposição aos pesticidas no comportamento de ingestão alimentar (*food intake*) como indicador integrado da toxicidade metabólica.
- d) Realizar análises bioquímicas gerais para avaliar aspectos do metabolismo mitocondrial e processos de detoxificação em moscas adultas.
- e) Realizar análises de expressão gênica para investigar alterações na regulação de genes relacionados ao metabolismo de detoxificação em moscas expostas aos pesticidas.
- f) Correlacionar parâmetros do metabolismo energético com a expressão de genes de detoxificação, buscando compreender a relação entre alterações

REFERÊNCIAS

- ¹ ADEYINKA, A. *et al.* Environmental contaminants and liver disease: mechanisms and implications. **Toxicological Sciences**, v. 190, n. 2, p. 287-295, 2022.
- ² AL ABOUD, T. *et al.* Epigenetic regulation in hepatic steatosis: current insights and future directions. **Journal of Hepatology Research**, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2022.
- ³ AN, G. *et al.* Overview of the hazardous impacts of metabolism-disrupting chemicals on the progression of fatty liver diseases. **Molecular & Cellular Toxicology**, v. 21, n. 2, p. 387-397, 27 fev. 2025.
- ⁴ ARMSTRONG, M. J.; GUO, K. Nonalcoholic fatty liver disease and environmental exposures: emerging evidence and mechanisms. **Hepatology International**, v. 13, p. 131-140, 2019.
- ⁵ ARYAL, B. *et al.* Protocol for binary food choice assays using *Drosophila melanogaster*. **STAR Protocols**, v. 3, n. 2, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666166722001316>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁶ ATOKI, A. V. *et al.* Exploring the versatility of *Drosophila melanogaster* as a model organism in biomedical research: a comprehensive review. **Fly**, v. 19, n. 1, 25 dez. 2024.
- ⁷ BANU, A.; SALIM, S.; MOHAMMAD, F. From lab to clinic and farm: leveraging *Drosophila* feeding studies to combat eating disorders and pest challenges. **Biology**, v. 14, n. 9, p. 1168, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology14091168> . Acesso em: 1 fev. 2026.
- ⁸ BAYLIAK, M. M.; LYMAR, O. S.; STOREY, K. B. Induction of antioxidant defenses under environmental stress in *Drosophila melanogaster*. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 150, p. 101-112, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.021>.
- ⁹ BEIER, J. I. *et al.* Environmental pollutants, occupational exposures, and liver disease. **Seminars in Liver Disease**, 21 mar. 2025.
- ¹⁰ BELYI, S.; TRAPANI, J. G.; TOWER, J. Sex-specific regulation of oxidative stress responses and aging in *Drosophila*. **GeroScience**, v. 42, n. 2, p. 561-575, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11357-019-00133-3>.
- ¹¹ BHATNAGAR, P.; KARNAY, A. M.; ELEFANT, F. Epigenetics and environmental stressors: a molecular dialogue. **Trends in Molecular Medicine**, v. 29, n. 1, p. 34-48, 2023.
- ¹² BLAU, J. N. *et al.* Environmental stressors and fatty liver: the toxicant-associated fatty liver disease (TAFLD) model. **Environmental Health Perspectives**, v. 129, n. 4, p. 046002, 2021.

- ¹³ BROWN, J. B. *et al.* An integrated host-microbiome response to atrazine exposure mediates toxicity in *Drosophila*. **Communications Biology**, v. 4, art. 1324, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02847-y>. Acesso em: 1 fev. 2026.
- ¹⁴ CALABRESE, E. J.; MATTSON, M. P. Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. **Journal of Cell Communication and Signaling**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12079-016-0386-6>.
- ¹⁵ CANTADOR, V. H. C. **Pesticidas derivados de uracila e a saúde hepática: avaliação dos seus efeitos toxicológicos em vias de sinalização adversa (AOP) em *Drosophila melanogaster* como modelo alternativo de investigação.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/5b541acd-db42-4ba6-80d5-b7155d825c0c>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ¹⁶ CENTERS, N. NCCOS | Data Collection. Disponível em: https://products.coastalscience.noaa.gov/easi/data/contaminants_detail.aspx?contamid=442. Acesso em: 17 nov. 2025.
- ¹⁷ CHEN, H.; CUI, H.; MENG, Z. *et al.* The nexus of environmental endocrine-disrupting chemical exposure and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: an emerging public health challenge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651325018585>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ¹⁸ CHEN, X. *et al.* Xenobiotics disrupt glutathione homeostasis via mitochondrial impairment. **Environmental Research**, v. 241, p. 117281, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117281>.
- ¹⁹ CHHIMWAL, J.; PATIAL, V.; PADWAD, Y. Beverages and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): think before you drink. **Clinical Nutrition**, v. 40, n. 5, p. 2508-2519, maio 2021.
- ²⁰ COOK-WIENS, E.; GROVES, A. K. Neurotoxic effects and behavioral endpoints in *Drosophila melanogaster*. **Toxicology**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152543>.
- ²¹ CORTÉS, M. A. *et al.* Pesticide-induced mitochondrial dysfunction and energy metabolism disruption. **Environmental Toxicology**, v. 36, n. 5, p. 876-885, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.23102>.
- ²² DEER, D. M. Environmental degradation of pesticides: persistence and implications. **Journal of Environmental Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 311-320, 2004.
- ²³ DESAI, M. S.; KLEIN, R. J. Chronic exposure windows in insect toxicology. **Toxicological Sciences**, v. 181, n. 2, p. 345-356, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfab012>.
- ²⁴ DJEKKOUN, R. *et al.* Contaminantes ambientais e seu impacto na saúde pública: uma revisão. **Environmental Health Perspectives**, v. 129, n. 8, p. 1482-1490, 2021.

- ²⁵ EFSA. Guidance on the assessment of pesticide effects on non-target arthropods. **EFSA Journal**, 2024. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ²⁶ EPA. **ToxRefDB: Exploring ToxCast Data**. 2023. Disponível em: <https://www.epa.gov/chemical-research/exploring-toxcast-data-downloadable-data>. Acesso em: 28 abr. 2025.
- ²⁷ EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Guidance on sex-specific differences in pesticide toxicology and risk assessment. **Parma**, 2026. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu>. Acesso em: jan. 2026.
- ²⁸ FDA. **Color additives permitted for use in food**. 2023. Disponível em: <https://www.fda.gov/industry/color-additives/color-additives-food>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ²⁹ FENG, G. *et al.* Global burden of metabolic dysfunction-associated liver disease, 2010 to 2021. **JHEP Reports**, p. 101271, 14 nov. 2024.
- ³⁰ FESHUK, M. *et al.* ToxRefDB v2.1: update to curated in vivo study data in the Toxicity Reference Database. **Frontiers in Toxicology**, v. 5, 11 set. 2023.
- ³¹ FLORES, H. A. *et al.* Subchronic exposure models in *Drosophila melanogaster* for metabolic toxicology studies. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 8, p. 2154-2163, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.5051>.
- ³² FORMENKO, L.; BILOUS, O. Glutathione system in oxidative stress response. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 188, p. 41-52, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.05.012>.
- ³³ GÁLVEZ, A. *et al.* Sex-specific regulation of feeding and metabolism in *Drosophila*. **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 923456, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.923456>.
- ³⁴ GÁLVEZ, M. *et al.* Pesticide-induced alterations in carbohydrate metabolism in insects. **Chemosphere**, v. 301, p. 134789, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134789>.
- ³⁵ HABIBULLAH, M. *et al.* Metabolic-associated fatty liver disease: a selective review of pathogenesis, diagnostic approaches, and therapeutic strategies. **Frontiers in Medicine**, v. 11, 23 jan. 2024.
- ³⁶ HE, Q. *et al.* Subchronic pesticide exposure disrupts energy metabolism in *Drosophila*. **Chemosphere**, v. 307, p. 135734, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135734>.
- ³⁷ HEIER, C.; KÜHNLEIN, R. P. Triacylglycerol metabolism in *Drosophila melanogaster*. **Genetics**, v. 216, n. 1, p. 1-28, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.120.303387>.
- ³⁸ HENDERSON, J. *et al.* **Department of Pesticide Regulation: memorandum toxicology and dose response assessment section**. 2024. Disponível em:

https://www.cdpr.ca.gov/wp-content/uploads/2024/10/bromacil_residues_groundwater.pdf. Acesso em: 17 nov. 2025.

³⁹ HSU, C. L.; SCHNABL, B. The gut–liver axis and gut microbiota in health and liver disease. **Nature Reviews Microbiology**, v. 21, n. 11, p. 719-733, 1 nov. 2023.

⁴⁰ ISAACS, S. R. Liver physiology and pathophysiology: an updated review. **Annual Review of Physiology**, v. 85, p. 273-298, 2023.

⁴¹ JAIN, M.; JACOBSON, K. Biossíntese e metabolismo de uridina no fígado humano. **Journal of Hepatology**, v. 56, n. 5, p. 892-900, 2022.

⁴² JANNER, D. E. *et al.* Oxidative stress and decreased dopamine levels induced by pesticide exposure cause behavioral changes in *Drosophila melanogaster*. **Neurotoxicology**, v. 85, p. 79–89, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.05.006>.

⁴³ JONES, D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 35, n. 6, p. 423-445, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2021.0043>.

⁴⁴ KAFER, J. E. *et al.* Pirimidinas e sua influência no metabolismo hepático. **Journal of Biochemistry**, v. 56, n. 7, p. 1205-1210, 2004.

⁴⁵ KALININA, E. V. *et al.* Glutathione metabolism and redox regulation. **Cells**, v. 12, n. 4, p. 612, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells12040612>.

⁴⁶ KESSLER, M. *et al.* Mitochondrial metabolic plasticity under chemical stress: insights from enzymatic markers. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 389-401, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.5852>.

⁴⁷ KIM, Y. *et al.* Inflammation in MASLD progression and cancer. **JHEP Reports**, p. 101414, 2 abr. 2025.

⁴⁸ KOYAMA, T. The integrative physiology of hormone signaling: insights from insect models. **Physiology**, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physiol.00030.2024>.

⁴⁹ LARSEN, S. *et al.* Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 590, n. 14, p. 3349-3360, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230185>.

⁵⁰ LASCH, J. *et al.* A contaminação por pesticidas e seus efeitos sobre a saúde humana. **Food Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 234-242, 2021.

⁵¹ LE, G. M. *et al.* Efeitos protetores da uridina na hepatotoxicidade e metabolismo lipídico. **Journal of Molecular Medicine**, v. 92, p. 231-242, 2014.

⁵² LEE, H. Y. *et al.* Epigenetic dysregulation by herbicide exposure: insights into liver lipid metabolism. **Toxicology Reports**, v. 10, p. 137-145, 2023.

- ⁵³ LEIVAS, C. L. *et al.* Estudo transversal da prevalência de esteatose hepática no Brasil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 58, n. 2, p. 103-110, 2021.
- ⁵⁴ LI, H. *et al.* Sex-specific metabolic responses to environmental contaminants. **Environmental Health Perspectives**, v. 129, n. 8, p. 087003, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1289/EHP8304>.
- ⁵⁵ LI, X. *et al.* Mitochondrial dysfunction as a pathogenesis and therapeutic strategy for metabolic-dysfunction-associated steatotic liver disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 9, p. 4256, 30 abr. 2025.
- ⁵⁶ LICHTENSTEIN, L. *et al.* Adverse outcome pathways in hepatic steatosis induced by environmental chemicals. **Toxicology Letters**, v. 330, p. 102-113, 2020.
- ⁵⁷ LIU, X. Y. *et al.* Terbacil-induced hepatic epigenetic modifications and metabolic reprogramming. **Chemico-Biological Interactions**, v. 379, p. 110532, 2024.
- ⁵⁸ LIU, Z. *et al.* Environmental chemicals and glucose metabolism disruption. **Environmental Pollution**, v. 336, p. 122393, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122393>.
- ⁵⁹ LOLESCU, B. M. *et al.* Adipose tissue as target of environmental toxicants: focus on mitochondrial dysfunction and oxidative inflammation in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11010-025-05221-2>.
- ⁶⁰ LU, K. *et al.* Xenobiotic-induced mitochondrial dysfunction and oxidative stress. **Environmental Pollution**, v. 285, p. 117457, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117457>.
- ⁶¹ LU, Y. *et al.* Mechanistic insights into hepatotoxicity: metabolic imbalance and immune dysregulation. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 21, p. 45-58, 2022.
- ⁶² LU, Y. *et al.* Mitochondrial dysfunction links pesticide exposure to lipid metabolic disorders. **Environmental Pollution**, v. 290, p. 118012, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118012>.
- ⁶³ LUSHCHAK, V. I. Oxidative stress in insects. **Biochemistry (Moscow)**, v. 87, n. 1, p. 25-38, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297922010049>.
- ⁶⁴ MISSIRLIS, F. *et al.* A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* is required to prevent oxidative stress and neurodegeneration. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 47, p. 47365-47369, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M307105200>.
- ⁶⁵ MOLICA, L. R. **Efeitos dos herbicidas bromacil e terbacil sobre o metabolismo energético pró-esteatótico e padrões epigenéticos específicos em cultivo celular como ferramenta para toxicologia preditiva.** 2025. Dissertação (Mestrado) — Universidade Estadual Paulista (UNESP). Disponível em: <https://hdl.handle.net/11449/310393>. Acesso em: 15 jan. 2026.

- ⁶⁶ MOLICA, M. *et al.* Impact of pesticide use in Brazil: an analysis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 5, p. 1058-1065, 2021.
- ⁶⁷ MORRISON, C. M. *et al.* Sex-specific metabolic responses to environmental stress in *Drosophila*. **Scientific Reports**, v. 10, p. 12765, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69668-9>.
- ⁶⁸ MORRISON, J. K. *et al.* Sex differences in metabolic plasticity under environmental stress in *Drosophila melanogaster*. **Journal of Experimental Biology**, v. 223, p. jeb226019, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1242/jeb.226019>.
- ⁶⁹ MULLER, K. *et al.* Toxicological effects of Roundup® on *Drosophila melanogaster* reproduction. **Toxics**, v. 9, n. 7, p. 161, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics9070161>.
- ⁷⁰ NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). PubChem compound summary for terbacil. **Bethesda: National Institutes of Health**, 2025. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Terbacil>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁷¹ NICHOLS, C. D. *et al.* Using *Drosophila melanogaster* to study neurobehavioral toxicity. **Neurotoxicology and Teratology**, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2011.08.001>.
- ⁷² OECD. Revised guidance document on molecular and biochemical endpoints in environmental risk assessment. **Paris: OECD Publishing**, 2023. Disponível em: <https://www.oecd.org/environment/>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁷³ OLIVEIRA, A. C. P. de. **Efeitos de contaminantes ambientais com estruturas análogas à uracila no metabolismo lipídico pró-esteatótico em co-cultura celular e no modelo de cultivo 3D de baixo custo**. 2025. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) — Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/d3380eed-8756-4ae0-ae1b-635e755e97eb>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁷⁴ PALM, W. *et al.* Sexual dimorphism in lipid metabolism. **Nature Metabolism**, v. 4, p. 111-123, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00507-3>.
- ⁷⁵ PATEL, P. Treatment landscape of metabolic-dysfunction-associated steatotic liver disease. **Journal of Clinical Medicine**, v. 14, n. 17, p. 6060, 27 ago. 2025.
- ⁷⁶ PERRY, T.; BAKER, G. J. *Drosophila melanogaster* as a model organism for toxicological and metabolic studies. **Archives of Toxicology**, v. 97, p. 2741-2762, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-023-03548-2>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁷⁷ PETERSON, E. K.; LONG, H. E. Experimental protocol for using *Drosophila* as an invertebrate model system for toxicity testing in the laboratory. **Journal of Visualized Experiments**, n. 137, e57450, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3791/57450>.

- ⁷⁸ PICARD, M. *et al.* Mitochondrial functional specialization and metabolic plasticity. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 22, p. 367-386, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00357-8>.
- ⁷⁹ RAMALHO, D. L. *et al.* The neurotoxicity of paraquat and its degradation products on *Drosophila melanogaster*. **Scientific Reports**, v. 15, p. 16447, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-86413-0>.
- ⁸⁰ RAND, M. D. *et al.* Perspectives on the *Drosophila melanogaster* model for advances in toxicological science. **Current Protocols**, v. 3, n. 8, 1 ago. 2023.
- ⁸¹ RAND, M. D. *et al.* Perspectives on the *Drosophila melanogaster* model for advances in toxicological science. **Current Protocols**, v. 3, n. 8, e870, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cpz1.870>.
- ⁸² RINELLA, M. E. *et al.* Global burden of NAFLD: a call for public health strategies. **Journal of Hepatology**, v. 76, n. 1, p. 208-218, 2022.
- ⁸³ SANTOS, I. C. **Estudo dos efeitos dos pesticidas derivados de uracila no metabolismo energético de células hepáticas e sua correlação com processo pró-esteatótico**. 2024. Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/9ddba0b2-7cbb-4b25-a667-67bdea7c3483>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁸⁴ SANTOS, R. S. *et al.* Chronic low-dose pesticide exposure and metabolic disruption. **Science of the Total Environment**, v. 838, p. 155927, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155927>.
- ⁸⁵ SEGU, A.; RADHAKRISHNAN, D.; KANNAN, N. N. Modified capillary feeder assay using micro-tips to measure feeding in *Drosophila*. **STAR Protocols**, v. 4, n. 3, 102393, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2023.102393>.
- ⁸⁶ SEN, K. *et al.* Doença hepática gordurosa não alcoólica e sua relação com a exposição a pesticidas. **Hepatology Research**, v. 52, p. 205-215, 2022.
- ⁸⁷ SHARMA, K. *et al.* Impacto do uso de herbicidas à base de uracila na saúde e no ambiente. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 56, p. 875-885, 2020.
- ⁸⁸ SHELL, B. C. *et al.* Measurement of solid food intake in *Drosophila* via consumption-excretion of a dye tracer. **Journal of Visualized Experiments**, n. 133, e57263, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3791/57263>.
- ⁸⁹ SHEN, K. *et al.* Therapies for non-alcoholic fatty liver disease: a 2022 update. **World Journal of Hepatology**, v. 14, n. 9, p. 1718-1729, 27 set. 2022.
- ⁹⁰ SHI, L. *et al.* Transgenerational epigenetic effects of pesticides: mechanisms and implications. **Epigenetics & Chromatin**, v. 16, n. 1, p. 18, 2023.

- ⁹¹ SIES, H.; BERND, C. Glutathione and redox signaling. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 39, n. 1, p. 1-17, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2022.0198>.
- ⁹² SILVA, R. M.; COSTA, L. P.; FERREIRA, A. L. *et al.* Metabolic and physiological stabilization after adult emergence in *Drosophila melanogaster*: implications for toxicological assays. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1532045624001123>. Acesso em: 15 jan. 2026.
- ⁹³ SIMPSON, S. J.; RAULSTON, J. R. Sex differences in energy metabolism under environmental stress. **Frontiers in Physiology**, v. 12, p. 684201, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.684201>.
- ⁹⁴ STEVANOVIĆ-SILVA, J. *et al.* Desenvolvimento precoce de DHGNA e exposições ambientais durante a gestação. **Environmental Health**, v. 31, n. 6, p. 152-160, 2022.
- ⁹⁵ STRAKATIS, E. *et al.* **Epigenetic mechanisms in nonalcoholic fatty liver disease. Epigenetics**, v. 15, n. 8, p. 759-765, 2020.
- ⁹⁶ TAO, J. *et al.* Epigenetic modifications mediated by environmental stressors in hepatic diseases. **Journal of Hepatology Research**, v. 12, n. 2, p. 201-210, 2023.
- ⁹⁷ TIWARI, S. *et al.* Oxidative stress and metabolic disruption caused by herbicides. **Toxicology Letters**, v. 384, p. 1-10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2023.04.006>.
- ⁹⁸ TOWER, J. Non-alcoholic fatty liver disease: a global perspective. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 20, p. 93-106, 2023.
- ⁹⁹ TOWER, J. Sex-specific regulation of aging and stress resistance in *Drosophila*. **Experimental Gerontology**, v. 130, p. 110741, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110741>.
- ¹⁰⁰ UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Integrated Risk Information System (IRIS): chronic toxicity and systemic effects of pesticides. **Washington**, DC, 2026. Disponível em: <https://www.epa.gov/iris>. Acesso em: jan. 2026.
- ¹⁰¹ UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. Terbacil (Ref: DPX D732). Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/620.htm>. Acesso em: 17 nov. 2025.
- ¹⁰² VORNOLI, A. *et al.* Evaluation of toxicant-associated fatty liver disease and liver neoplastic progress in Sprague-Dawley rats treated with low doses of aflatoxin B1 alone or in combination with extremely low frequency electromagnetic fields. **Toxins**, v. 14, n. 5, p. 325, 1 maio 2022.
- ¹⁰³ WONG, R.; PIPER, M. D. W.; PARTRIDGE, L. Quantification of food intake in *Drosophila*. **PLoS ONE**, v. 4, n. 6, e6063, 2009. Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0006063>. Acesso em: 15 jan. 2026.

¹⁰⁴ WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Neurotoxicity of pesticides: mechanisms and health implications. **Geneva**, 2026. Disponível em: <https://www.who.int>. Acesso em: jan. 2026.

¹⁰⁵ WU, Q. *et al.* Excreta quantification (EX-Q) for longitudinal measurement of food intake in *Drosophila*. **iScience**, v. 21, p. 495-506, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004219307560>. Acesso em: 15 jan. 2026.

¹⁰⁶ YOUNOSSI, Z. M.; KALLIGEROS, M.; HENRY, L. Epidemiology of metabolic dysfunction associated steatotic liver disease. **Clinical and Molecular Hepatology**, 19 ago. 2024.

¹⁰⁷ YOUNOSSI, Z. M. Non-alcoholic fatty liver disease: a global perspective. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 20, p. 93-106, 2023.

¹⁰⁸ ZHANG, X. *et al.* Changes in hepatic metabolism induced by environmental interference. **Journal of Hepatology**, v. 65, n. 2, p. 400-410, 2020.

¹⁰⁹ ZHANG, Y. *et al.* Energy metabolism disruption by herbicides: insights from *Drosophila* models. **Science of the Total Environment**, v. 858, p. 159802, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159802>.

¹¹⁰ ZHANG, Y. *et al.* Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant depletion. **Science of the Total Environment**, v. 857, p. 159420, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159420>.