



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Cláudia Oliveira Rodrigues

Relatórios de Estágio sob a orientação da Eng. Olga Santos e da Dra. Daniela Cabral e Monografia intitulada “Insights into Glyphosate effects in neurological diseases”, sob a orientação da Professora Doutora Angelina Pena, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Cláudia Oliveira Rodrigues

Relatórios de Estágio sob a orientação da Eng. Olga Santos e da Dra. Daniela Cabral e Monografia intitulada “Insights into Glyphosate effects in neurological diseases”, sob a orientação da Professora Doutora Angelina Pena, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Ana Cláudia Oliveira Rodrigues, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018272365, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Insights into Glyphosate effects in neurological diseases” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2023.

Ana Cláudia Oliveira Rodrigues

(Ana Cláudia Oliveira Rodrigues)

## **Agradecimentos**

*A Coimbra, pelos momentos únicos que me proporcionou e me ajudou a crescer enquanto pessoa.*

*Aos meus amigos de curso, por todos os momentos vividos que nunca vou esquecer.*

*À minha família de praxe, a Vera, Bea, Daniela, Sara, Inês Oliveira, Mariana, Inês Fonte e Kiko por todo o apoio incondicional e por me terem dado momentos únicos. A todos os meus netos e restante família de praxe, que continuem a espalhar a magia da nossa tradição.*

*Ao João, por estar sempre ao meu lado e por ter sido um grande suporte e ajuda durante a escrita deste trabalho.*

*A todos os colegas do laboratório de Controlo de Qualidade e do Departamento de Garantia de Qualidade da Tilray, que me integraram desde o primeiro dia.*

*A todos os membros da equipa da Farmácia Oudinot por tudo o que me ensinaram e me terem acolhido tão bem como parte da equipa durante todo o meu Estágio.*

*À Renata, pelo apoio durante todo o Estágio em Farmácia.*

*À Professora Doutora Angelina Pena pelo auxílio e disponibilidade na elaboração da Monografia.*

*Aos meus avós, à minha avó, tia, mana e pai por estarem sempre lá a ajudar-me a ultrapassar as minhas dificuldades e aos seus conselhos.*

*E por último, à minha mãe, por ser o meu maior apoio, a minha melhor amiga. Por todo o amor incondicional e ajuda que me deu durante estes 5 anos.*

*Um obrigada não chega a todas estas pessoas pelo papel que tiveram durante os 5 anos que estive em Coimbra. Sem cada um de vocês não teria a mesma piada.*

**Obrigada!**

# Índice

## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. A Tilray.....	8
3. Descrição das atividades.....	9
3.1. Garantia de Qualidade (QA).....	9
3.2. Controlo de qualidade (QC).....	10
4. Análise SWOT.....	10
4.1. Pontos Fracos.....	10
4.2. Pontos Fortes.....	11
4.3. Ameaças.....	12
4.4. Oportunidades.....	12
5. Conclusões Finais.....	12
6. Referências Bibliográficas.....	14

## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Lista de Abreviaturas.....	16
1. Introdução.....	17
2. A Farmácia Oudinot.....	17
3. Análise SWOT.....	18
3.1. Pontos Fortes.....	18
3.2. Pontos Fracos.....	20
3.3. Oportunidades.....	22
3.4. Ameaças.....	23
4. Conclusão.....	25
5. Casos Práticos.....	26
6. Bibliografia.....	29

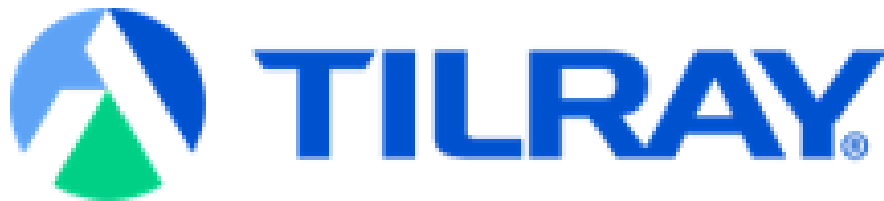
## Monografia: Insights into Glyphosate effects in neurological diseases

Abbreviation list.....	31
Resumo.....	33
Abstract.....	34
1. Introduction.....	35
2.2. Herbicides.....	35
2.3. Organophosphorus compounds.....	36
3. Glyphosate.....	37
3.1 History.....	37
3.2 Physical and Chemical Properties.....	37
3.3 Mechanism of Action.....	37
3.4 Formulations.....	38
3.5 Market.....	38
4. Glyphosate Toxicokinetics.....	39
4.1 Absorption and excretion.....	39
4.2 Biodegradation.....	39
5. Quantification of glyphosate and metabolites.....	39

5.1	Samples.....	39
5.2	Human Biomonitoring studies.....	40
6.	Health concerns .....	40
7.	Toxicity.....	41
7.1	Acute Toxicity.....	41
7.2	Human exposure and occurrence in food .....	42
7.3	Carcinogenicity.....	43
8.	Neurological effects .....	44
8.1	Acetylcholine.....	45
8.2	Manganese .....	46
8.2.1	Lactobacillus .....	47
8.3	Glutamate.....	47
8.4	Urea Cycle.....	49
8.5	MicroRNA.....	49
8.6	Behaviour tests <i>in vivo</i> .....	50
8.7	Intestine.....	50
8.8	Oxidative Stress .....	51
8.9	Parkinsonism .....	51
8.10	Alzheimer´s Disease.....	52
8.10.1	TNF-alpha.....	53
9.	Critical overview and discussion.....	53
10.	Conclusion.....	55

# RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

TILRAY, Indústria Farmacêutica, S.A



Sob orientação da Eng. Olga Santos

## Lista de Abreviaturas

EPI	Equipamento de Proteção Individual
GMP	<i>Good Manufacturing Practices</i>
IF	Indústria Farmacêutica
IPC	<i>In Process Control</i>
LIR	<i>Laboratory Investigation Report</i>
MBR	<i>Master Batch Record</i>
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
QA	<i>Quality Assurance</i>
QC	<i>Quality Control</i>
SOP	<i>Standard Operating Procedure</i>
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>



## **1. Introdução**

Decidi dividir a unidade curricular ‘Estágio Curricular’ do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas em 2 áreas: Farmácia Comunitária e Indústria Farmacêutica. Escolhi a Indústria Farmacêutica para diversificar os meus conhecimentos quanto à atividade farmacêutica e ficar a conhecer um pouco mais sobre o seu dia-a-dia. MICF é um curso com diversas saídas e não conseguimos contactar com todas. Assim, no momento de escolher a área que queremos seguir torna-se um pouco complicado de fazer essa seleção devido à nossa falta de conhecimento sobre cada uma delas. Entre todas essas áreas, sem contar com a Farmácia Comunitária, a Indústria foi a que me despertou mais interesse em saber como funcionava, até porque tem vários departamentos onde podemos atuar. Assim, candidatei-me à Tilray e tive a sorte de poder vivenciar o dia-a-dia de 2 grandes áreas: Garantia de Qualidade e Controlo de Qualidade. O meu estágio teve a duração de 420 horas (cerca de 3 meses) sob a orientação da Dra. Mariana Martins e da Eng. Olga Santos.

Na primeira parte deste relatório vai ser feita uma descrição da empresa, seguida de uma exposição das atividades realizadas e finalizando com uma análise SWOT.

## **2. A Tilray**

A Tilray é uma empresa multinacional canadiana fundada em 2013, líder na produção e investigação de canábis medicinal. Em Cantanhede, abriu portas em 2019, fazendo com que a produção não se situe apenas no Canadá, mas também em Portugal e na Alemanha. Foi a primeira empresa da canábis medicinal com certificação GMP (Boas Práticas de Fabrico), que são normas seguidas internacionalmente para certificar que o produto tem a qualidade máxima possível (1). Estas normas permitiram à Tilray a exportação para mais de 20 países. É uma empresa com valores bastante fortes, nomeadamente de segurança, qualidade e pureza, proporcionando um acesso de elevada excelência aos seus pacientes.

Para além da produção e investigação, a estratégia da empresa também passa por dinamizar outro tipo de serviços, como a promoção à educação, recorrendo a revistas, práticas sustentáveis e elaboração de parcerias com hospitais e universidades do mundo inteiro, de modo a promover a investigação sobre a aplicação de canabinóides. Toda a empresa opera de acordo com as normas de ética, requisitos de conformidade e práticas empresariais (2).

### 3. Descrição das atividades

#### 3.1. Garantia de Qualidade (QA)

A indústria farmacêutica rege-se por procedimentos escritos, como SOPs (Procedimentos Operativos Normalizados) e por MBRs (Master Batch Record). No MBR regista-se todos os processos de produção / fabrico realizados e o SOP consiste numa descrição das operações a serem realizadas e as medidas de precaução adotadas.

O meu estágio na Garantia da qualidade teve a duração de 1 mês e focou-se na gestão documental.

A vida de um documento inicia-se com a sua criação. Mais tarde podemos ter a necessidade de rever/modificar algo, ou seja, a pessoa que detetava o erro pedia e os responsáveis pela gestão documental punham esse documento numa pasta pronto a ser analisado. Quando a revisão estiver concluída, a nossa função é mandar o documento para assinaturas e, posteriormente, pedir às pessoas afetadas pela mudança para fazerem um treino (tempo máximo de 5 dias) e publicar no fim desse tempo. Todos os documentos têm de obedecer a regras GMP, nomeadamente de escrita, data e correção de erros.

Ainda dentro da gestão documental tive a responsabilidade de tratar dos *logbooks*, que são livros onde há registos de todas as medições, ou seja, emiti e fechei *logbooks*.

Para além da gestão documental, ainda tive responsabilidade sobre os LIRs (*Laboratory Investigation Report*), ou seja, quando algum resultado não está de acordo com as especificações, abre-se um inquérito para estudar a proveniência desse erro. Quem abre o LIR é a garantia de qualidade, mas quase sempre é o controlo de qualidade que faz a investigação. Quando o relatório de investigação estiver feito, é enviado para a garantia para analisarem de modo a que se possa fechar e arquivar com as devidas assinaturas.

Estas foram as atividades que fazia diariamente, porém também tive outras como realizar a monitorização anual (contabilizar todas as revisões de documentos que existiam em 2022) e outras tarefas de organização.

Gostei deste estágio, porém senti que não aprendi muito em termos da parte farmacêutica da empresa, uma vez que a minha contribuição nos documentos era meramente administrativa.

### **3.2. Controlo de qualidade (QC)**

O Controlo de Qualidade é o departamento onde se confere que o produto está conforme com todas as normas para ser comercializado de forma segura. Está dividido em duas partes: O IPC (*In Process Control*) e o laboratório Físico-químico. O meu estágio no QC realizou-se no laboratório Físico-químico, onde se realizam análises de matérias-primas, material de acondicionamento, produto em *bulk*, produto final e ainda se fazem testes de estabilidades.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de realizar várias atividades, entre as quais se destacam gestão de resíduos, receção de amostras, calibração e verificação diária de pipetas, metanol e balanças, calibração do aparelho medidor de pH e análises, recolha semanal dos dados registados pelos “*dataloggers*”, recolha de água semanal para análise, atividades na Farmacoteca, realização de fases móveis com acerto de pH e teste de uniformidade de massa recorrendo a seringas. Quanto a métodos de análise, efetuei a Identificação de substâncias por espetrofotometria Raman, método de Karl Fisher e determinação de Aflotoxinas e densidade.

## **4. Análise SWOT**

É uma ferramenta criada por dois professores de Harvard em 1950 (3) que permite analisar estrategicamente as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças de um dado projeto. As forças e fraquezas dizem respeito à avaliação interna da empresa, enquanto as oportunidades e ameaças estão relacionadas com o ambiente envolvente, que podem beneficiar ou prejudicar a empresa (4).

### **4.1. Pontos Fracos**

- **Escolha do departamento**

Como vou referir no parágrafo das Ameaças, uma das grandes falhas do MICF é a falta de conhecimento por parte dos alunos dos vários departamentos que existem na Indústria Farmacêutica. Assim, do meu ponto de vista acho que seria benéfico o estudante poder ver um pouco de tudo, ou seja, integrar os vários departamentos no intervalo de tempo do estágio, de modo a perceber com que área se identifica mais. Para além disto, não foi dada a oportunidade ao estudante de escolher o departamento que preferia integrar, ao contrário do que sucedeu em outras IF, sendo o critério apenas feito consoante a ajuda que precisavam em cada setor.

- **Plano e duração do Estágio**

As atividades a fazer ao longo do dia eram escassas o que fez com que houvesse muitos tempos “mortos” durante o dia. Na maioria dos dias tinha cerca de 2 atividades para fazer. Na minha opinião devia ser feito um melhor acompanhamento ao estagiário e devia ter sido feito um plano de estágio. Não consegui experimentar todos os métodos práticos que executam no laboratório, porém não consigo afirmar que se estivesse mais tempo iria conseguir experimentar. Assim, com base na minha experiência acho que a duração está adequada. Métodos como HPLC e ICP-MS não foram ensinados e na minha opinião são muito importantes.

#### **4.2. Pontos Fortes (Strenghts)**

- **Condições e Ambiente de Trabalho**

As condições de trabalho que a Tilray disponibiliza aos seus trabalhadores são ótimas. Os laboratórios estão bem equipados, assim como as áreas de refeição, convívio e estacionamento privado. Logo no primeiro dia são fornecidos os EPIs (Equipamentos de Proteção Individual) necessários à correta realização de atividades laboratoriais. A nível informático é nos fornecido um computador portátil, que nos irá acompanhar durante todo o percurso, com acesso a um e-mail pessoal e a um chat de modo a dinamizar e facilitar a comunicação entre todos os trabalhadores da empresa.

Quanto ao ambiente de trabalho, as pessoas são bastante simpáticas e sempre prontas a ajudar e a tirar as dúvidas.

- **Formação Interna Contínua**

Os procedimentos da Tilray estão regularmente a sofrer alterações, pois são feitas revisões periodicamente, de modo a que estejam na sua versão mais correta e atualizada. Depois da revisão ser feita e aprovada, estes documentos são enviados aos trabalhadores com obrigatoriedade de fazerem um treino ao novo documento, desenvolvendo assim uma formação interna contínua.

- **Mudança do departamento**

Como referi anteriormente, não foi disponibilizada a escolha de departamentos, porém tive a sorte de terem sido acessíveis e ter conseguido experimentar outra área a meio do estágio, tendo realizado assim estágio na Garantia e no Controlo de Qualidade. Por ter frequentado dois departamentos fiquei com uma noção mais alargada da IF e na minha opinião acho que todos os estudantes deviam ter acesso a esta opção.

### **4.3. Ameaças**

- **Plano de Estudos do MICF**

Depois de realizar o estágio em indústria farmacêutica senti que havia várias falhas no plano de estudos do MICF. Dentro da indústria farmacêutica existem várias áreas onde o farmacêutico pode atuar, que não são muito bem explicadas na faculdade e por isso torna-se difícil a sua escolha.

Algo interessante durante o percurso académico seria a promoção de mais períodos de estágio obrigatórios ao longo dos anos letivos.

- **Custos**

O estágio é das unidades curriculares mais importantes do curso senão mesmo a mais importante. É aqui que vemos como realmente é o mercado de trabalho, a área que mais nos identificamos e onde pomos em prática e consolidamos aquilo que aprendemos ao longo dos 5 anos. Assim, acho que é benéfico para qualquer estudante poder fazer estágio em todas as áreas do MICF. Porém, no caso da IF, a localização é muito limitada. Ou seja, muitas vezes o estudante tem de fazer vários quilómetros para poder estagiar ou alugar casa num local bastante longe da sua área de residência. Aliando-se ao facto de ainda se ter de pagar propinas e não se receber nada pelo estágio, o dinheiro pode muitas vezes ser um entrave aos estudantes que gostariam de experimentar a área e não conseguem. Na minha opinião os estágios deviam ser acessíveis a toda a gente e para além disso o trabalho do estudante numa empresa deveria ser reconhecido.

### **4.4. Oportunidades**

- **Desenvolvimento de competências**

Na indústria tive a oportunidade de desenvolver competências, como a execução de certos métodos laboratoriais que apenas demos teoricamente e ferramentas, como o Excel que era indispensável no dia-a-dia.

## **5. Conclusões Finais**

Este estágio permitiu-me ter uma imagem mais clara do que é a IF e da sua organização. Quando estamos na faculdade não temos uma ideia clara de como é o mundo do trabalho e como está organizado. Assim, consegui ver o seu dia-a-dia para posteriormente saber se me identifico com esta área ou não.

Embora não tenha conseguido realizar todos os métodos, tive a oportunidade de experimentar algumas técnicas, que apenas dei teoricamente e que possivelmente me vão ser úteis no meu percurso profissional. Assim, consegui consolidar alguns conhecimentos adquiridos durante o MICF.

Gostaria de frisar que o Estágio é a unidade curricular mais importante do curso, porque para além de ser o local onde é posto em prática tudo o que demos e que muitas vezes já estava esquecido, também nos faz desenvolver muito enquanto pessoas e especialmente crescer a nível da responsabilidade.

Porém, nada disto seria possível se as melhores condições e ajuda por parte de todos os trabalhadores não tivesse sido disponibilizada. Por isso, quero agradecer a todas as pessoas, que na Tilray, tiraram um pouco do seu tempo e paciência para me poderem ajudar a desenvolver as competências que adquiri.

## **6. Referências Bibliográficas**

1. Tilray Portugal- Sobre a Tilray [Acedido a 26 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://tilraymedical.pt/sobre-a-tilray/>
2. Tilray Portugal. Responsabilidade Tilray [Acedido a 26 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://tilraymedical.pt/responsabilidade/>
3. Marketing Teacher- History of SWOT Analysis [Acedido a 26 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.marketingteacher.com/history-of-swot-analysis/>
4. Teoli, D., Sanvictores. T., Na, J. - SWOT Analysis [Acedido a 26 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725987/>

# **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

Farmácia Oudinot



Sob orientação da Dra. Daniela Cabral



## **Lista de Abreviaturas**

ANF	Associação Nacional de Farmácias
CCF	Centro de Conferência de Faturas
FC	Farmácia Comunitária
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
PVP	Preço de Venda ao Público
SWOT	<i>Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>

## **1. Introdução**

A segunda parte do meu estágio curricular em Ciências Farmacêuticas foi feita na Farmácia Oudinot sob a orientação da Dra. Daniela Cabral. Na minha opinião, esta parte do estágio é extremamente importante, na medida em que se faz a consolidação do que aprendemos ao longo dos 5 anos.

Os farmacêuticos comunitários desempenham várias funções, como por exemplo, a receção de encomendas, determinação de parâmetros bioquímicos, gestão de redes sociais, gestão de stocks, dispensa de medicamentos com avaliação farmacoterapêutica, entre outras. Esta profissão é essencial, uma vez que é na farmácia comunitária que os utentes procuram um profissional de saúde com quem possam falar, exprimir os seus receios quanto à medicação e à doença, ao contrário do que muitas vezes acontece no consultório do médico, onde os utentes têm um pouco de receio de partilhar certos sentimentos. Assim, arrisco-me a afirmar que o farmacêutico comunitário é o profissional de saúde mais próximo do doente e, por isso, tem de haver um trabalho de extrema responsabilidade.

## **2. A Farmácia Oudinot**

A Farmácia Oudinot está situada no centro da cidade de Aveiro, mais especificamente na rua principal, a Avenida Dr. Lourenço Peixinho. Devido à sua localização, os seus utentes e situações são bastante diversificadas, desde indivíduos apenas a aviarem receitas a utentes com necessidades dermocosméticas passando por turistas de outros países.

### 3. Análise SWOT

<b>S- Strengths (Pontos Fortes)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Equipa técnica</li><li>• Organização do Estágio</li><li>• Organização da farmácia</li><li>• Gestão de redes sociais</li><li>• Medição de parâmetros bioquímicos</li><li>• Localização</li><li>• CashGuard</li></ul>
<b>W- Weaknesses (Pontos Fracos)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Concomitância dos 2 Sifarmas</li><li>• Melhoria do sistema <i>Kaizen</i></li><li>• Preparação de medicamentos manipulados</li><li>• Troca de pontos por produtos</li><li>• Duração do estágio</li></ul>
<b>O- Opportunities (Oportunidades)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Formação contínua</li><li>• Dermofarmácia</li><li>• Observação da administração de injetáveis</li><li>• Realização de rastreios</li><li>• Formações escolares</li></ul>
<b>T- Threats (Ameaças)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Associação de nomes comerciais</li><li>• Medicamentos esgotados</li><li>• Venda de MNSRM em parafarmácias</li><li>• Receitas manuais</li><li>• Aconselhamento gratuito</li><li>• Venda de medicamentos <i>online</i></li></ul>

#### 3.1. Pontos Fortes

- **Equipa técnica**

Durante o meu estágio na Farmácia Oudinot senti-me sempre bastante acompanhada. A equipa técnica era bastante afável e atenciosa. Apesar de ter uma orientadora, todos os trabalhadores estavam sempre dispostos a ajudar-me, a tirar dúvidas e a ensinar.

Outro ponto positivo é a proximidade da Diretora Técnica à equipa e às estagiárias. Apesar de a Diretora Técnica passar mais tempo no escritório, isso não impediu para que tivesse feito um excelente acompanhamento às estagiárias e estivesse sempre preocupada com a nossa opinião e se estava tudo a correr bem ou não. Este ponto também tem influência no ambiente de trabalho e consequentemente na qualidade do trabalho feito por todos os trabalhadores. Uma vez que existe preocupação e proximidade, é gerado um bom ambiente para o desenvolvimento do sucesso.

- **Organização do Estágio**

Logo no primeiro dia foi me apresentada a minha orientadora de Estágio, a Dra. Daniela Cabral. Também me foi apresentado o meu cronograma de estágio, com as atividades que iria desempenhar e quando iriam ser feitas.

No primeiro mês estive a desempenhar tarefas de *backoffice*, o que me permitiu ter uma ideia mais clara dos produtos que tínhamos na farmácia, a sua organização e relembrar alguns conceitos de farmacologia, nomeadamente nomes de princípios ativos e a sua utilização. Passado o primeiro mês, comecei a ir para o balcão de forma gradual, o que me ajudou a ganhar mais confiança. O facto de estar sempre acompanhada ajudou imenso para perceber se estava a executar bem as tarefas e para ir tirando dúvidas sempre que necessitava.

- **Organização da farmácia**

Durante o período do meu estágio, a Farmácia Oudinot tinha 6 trabalhadores para além da Diretora Técnica. Cada farmacêutico é encarregue de uma ou mais tarefas e de uma ou mais marcas de dermocosmética. Por exemplo, uma pessoa era responsável pela gestão das reservas, isto é, de ir avaliando regularmente se estava tudo organizado; outra era responsável pela gestão do lar, outra pela gestão de medicamentos hospitalares, outra por fazer as encomendas diárias, entre outras tarefas. O mesmo acontecia com as marcas, cada farmacêutico tinha a sua marca de dermocosmética.

Esta organização de divisão de tarefas ajuda a que haja alguém que esteja mais especializado num determinado assunto e facilita prazos de execução de tarefas. Na minha perspetiva como estagiária também facilitou a comunicação, porque se tinha dúvidas em relação a uma determinada tarefa já sabia quem era a pessoa mais apropriada a quem perguntar. É de notar que todos os farmacêuticos da Farmácia sabem realizar qualquer tarefa e que apesar de haver uma pessoa mais responsável para determinada situação ainda existe uma segunda pessoa caso a primeira esteja de férias ou de folga.

- **Gestão de redes sociais**

A par com a farmacêutica que está encarregue da gestão das redes sociais, foi pedido às estagiárias para dinamizarem algumas campanhas através de publicações no *Facebook* e *Instagram* e no final do Estágio, também foi feito o desenvolvimento de um vídeo de marketing de um produto da marca Caudalie®.

Estas tarefas permitiram o desenvolvimento das minhas *skills* de *marketing*.

- **Medição de parâmetros bioquímicos**

Para além da medição da pressão arterial, na Farmácia Oudinot também se pode medir o colesterol, triglicéridos, ácido úrico e glicémia. Enquanto estagiária tive a oportunidade de realizar cada uma destas medições várias vezes, o que me permitiu, que neste momento, esteja bastante confortável a fazer a avaliação desses parâmetros bioquímicos.

- **Localização**

Como já referido anteriormente, a Farmácia Oudinot está localizada no centro da cidade, na Avenida Dr. Lourenço Peixinho, a principal avenida de Aveiro.

A sua localização faz com que seja uma Farmácia com bastante movimento. Em anos anteriores, tive a oportunidade de estagiar numa Farmácia mais pequena e num meio também mais pequeno, já fora da cidade.

Assim, consigo identificar que o tipo de utentes que cada Farmácia tinha era completamente diferente. Na Farmácia Oudinot, a maior parte dos utentes tem um poder de compra superior, o que faz com que os produtos que são vendidos e as necessidades sejam diferentes. Assim, é uma Farmácia que trabalha várias marcas de dermocosmética, o que me permitiu alargar o meu conhecimento nesta área. Por outro lado, uma vez que se trata de uma Farmácia no centro de uma cidade bastante turística, faz com que em alturas como o Verão haja mais turistas, tornando o atendimento, muitas vezes, num desafio para entender o que o utente precisa/ pretende. Porém, apesar de ser desafiador, também me habilitou para situações onde poderia ter de sair da minha área de conforto.

- **CashGuard**

A Farmácia Oudinot trabalha com CashGuard®, um sistema de gestão de dinheiro que permite uma melhor gestão de dinheiro e de segurança. Uma vez que já estagiei numa Farmácia que não tem este sistema, consigo afirmar que poupa muito tempo ao final do dia e evita erros de trocos (1)

### **3.2. Pontos Fracos**

- **Concomitância dos 2 Sifarmas**

Durante a realização do meu estágio, a Farmácia Oudinot recorre a 2 sistemas informáticos desenvolvidos pela *Glintt*, o Sifarma 2000® e o novo módulo, o Novo Sifarma®. No sistema antigo, desempenham-se sobretudo funções de gestão de encomendas e edição

de produtos. Gestão de reservas e atendimento são funções já executadas no novo sistema. A concomitância dos 2 sistemas gerou alguma confusão, uma vez que a forma como se trabalha com cada um é distinta e muitas vezes era necessário usar os dois em simultâneo, nomeadamente quando precisava de calcular o PVP de um produto durante o atendimento.

- **Melhoria da metodologia Kaizen**

A metodologia *Kaizen* é um serviço da Empresa de consultoria, *Glantt*. Esta metodologia surgiu no Japão e proporciona uma melhoria contínua com foco na resposta ao cliente, redução de desperdício da atividade operacional e aumento da rentabilidade da farmácia (2).

Deste modo, para ter resultados positivos são desenvolvidas certas tarefas como a realização de reuniões *Kaizen* esporádicas, dicas de arrumação, entre outros.

A Farmácia Oudinot aderiu a esta metodologia, porém existem aspetos que está a ter mais dificuldade em cumprir em detrimento de outros. A arrumação das gavetas é uma tarefa que estão a conseguir cumprir, o que reduz o tempo de procura de certos objetos e consequentemente aumento da rentabilidade do horário de trabalho. Porém, a arrumação do espaço, como a acumulação de banheiras dos armazenistas, e a falta de reuniões *Kaizen* são aspetos pouco trabalhados e que seriam cruciais. Na minha opinião, a base para o não cumprimento destas tarefas é a falta de mais funcionários e consequentemente de tempo.

- **Preparação de medicamentos manipulados**

A Farmácia Oudinot dispõe de um laboratório tal como referido nas Boas práticas Farmacêuticas para Farmácia Comunitária(3) porém não são realizados medicamentos manipulados com exceção de preparações extemporâneas de certos xaropes. Quando um utente se dirige à farmácia Oudinot com uma prescrição para um medicamento manipulado, terá de se encomendar a outra farmácia. Assim, considero um ponto fraco no meu estágio, uma vez que teria sido uma vantagem ter estagiado numa farmácia que prepara manipulados.

- **Troca de pontos por produtos**

O Cartão Saúde permite a acumulação de pontos que posteriormente se pode trocar por produtos ou rebater no valor de uma compra. Para a farmácia e para os nossos objetivos internos compensa mais a troca por produtos. Durante o meu estágio senti muita dificuldade em que o utente aceitasse a troca por produtos, preferindo sempre rebater na compra. Mesmo quando dava essa opção, o utente questionava logo se não dava para rebater em dinheiro.

- **Duração do estágio**

Na minha opinião, deveria ser alargado o período do estágio em farmácia comunitária e devia ser feito por datas (começar no dia x e acabar em y para todos os estudantes) e não por horas. Existem inúmeras atividades a serem realizadas na farmácia comunitária e cada atendimento é único. Assim, penso que a duração está desadequada, uma vez que depois de terminar o estágio ainda não me sinto muito confortável para entrar no mercado de trabalho.

### **3.3. Oportunidades**

- **Formação contínua**

Durante o meu estágio tive a oportunidade de frequentar diversas formações tanto de marcas como cursos sobre patologias.

Frequentei formações das marcas dermocosméticas Caudalie<sup>®</sup>, Bioderma<sup>®</sup> e Uriage<sup>®</sup> e das linhas veterinárias Frontline, FrontPro e Amflee. Na farmácia também tive a oportunidade de assistir a formações dadas por delegados, nomeadamente da Tilman<sup>®</sup>, Orliman<sup>®</sup> e Farline<sup>®</sup>. Para além das próprias marcas, também assisti a dois cursos dinamizados pela ANF sobre afeções oculares e Herpes Zoster.

A formação contínua é crucial para os farmacêuticos se manterem atualizados. No meu caso, enquanto estagiária, as formações das marcas foram bastante importantes para conhecer os seus produtos, uma vez que na faculdade não temos a oportunidade de conhecer marcas, o que se traduz num desafio enorme quando vamos estagiar para Farmácia Comunitária. Foi excelente a oportunidade de poder ter assistido a formações veterinárias, pois é uma lacuna muito grande do MICF.

Os cursos promovidos pela ANF também são uma fonte crucial de aprendizagem, porque existem muitos tópicos que não muito abordados no MICF, como é o caso das afeções oculares e outros que precisam de ser lembrados como é o caso do vírus Herpes Zoster.

Em suma, áreas como veterinária e dermocosmética são grandes lacunas no MICF, uma vez que foram as áreas que senti mais dificuldade no aconselhamento.

- **Observação da administração de injetáveis**

As vacinas extra Plano Nacional de Vacinação podem ser administradas na farmácia.

Durante o período de estágio tive, várias vezes, a oportunidade de observação da administração de injetáveis realizadas pelos farmacêuticos (4).

- **Realização de rastreios**

No mês de maio, a Farmácia Oudinot promoveu um rastreio cardiovascular, no qual eram feitas as medidas do colesterol, perímetro abdominal e da pressão arterial aos utentes. Este rastreio permitiu-me adquirir maior prática nestas medições, uma vez que as repeti várias vezes ao dia.

No mês de junho foi promovido um rastreio com parceria com a Tecnimede® de intolerância à lactose a utentes que tenham previamente sintomas. Este rastreio consistia na medição da glicose no sangue e na ingestão de uma bebida própria que continha lactose. Assim, à semelhança do rastreio cardiovascular, este rastreio permitiu-me aumentar a minha prática na medição da glicose, aumentar os meus conhecimentos sobre a decomposição da lactose no nosso organismo e concluir que mais de 50% dos utentes que realizaram o rastreio eram intolerantes.

- **Formações escolares**

Foram feitas formações escolares aos anos de pré-escolar, primeiro, segundo e quarto ano sobre temas bastante atuais e úteis. Estes temas englobaram a proteção solar, higiene oral, piolhos, segurança na água, pulgas e carraças. As formações escolares ajudaram-me a adquirir certas competências, como a divulgação de informação para diferentes faixas etárias. Antes da apresentação dos temas também foi feita uma grande pesquisa. As formações escolares evidenciam o papel do farmacêutico na comunidade e são cruciais, uma vez que é necessário ensinar estas medidas básicas às crianças, não só para aumentar a literacia em saúde, mas também para transmitirem o conhecimento aos pais de uma maneira um pouco mais relaxada.

### **3.4. Ameaças**

- **Associação de nomes comerciais**

Uma vez que apenas sabia os nomes dos princípios ativos senti alguma dificuldade em associá-los aos respetivos nomes comerciais ao contrário do que acontecia com os medicamentos genéricos. Assim, certos atendimentos em que os utentes se antecipavam e referiam logo o nome de marca do medicamento foram um grande desafio para mim.



- **Medicamentos esgotados**

A realidade dos medicamentos esgotados não é nova. Infelizmente, todos os anos se combate contra a escassez de certos medicamentos, porém este ano piorou, estão cerca de 200 produtos esgotados dentro dos *stocks* da farmácia. Medicamentos como Ozempic<sup>®</sup>, Ovestin<sup>®</sup>, Bisoprolol e entre outros estão esgotados há algum tempo. Isto tem duas grandes implicações a nível da farmácia comunitária: utentes e farmacêuticos.

Muitos medicamentos que estão esgotados são de uso crónico e em certos casos não existem alternativas. Por vezes, também é difícil explicar ao utente que a farmácia não consegue fazer nada para contornar esta situação, levando a um descontentamento por parte do utente.

No dia-a-dia do farmacêutico também tem repercussões acentuadas, uma vez que vai ter de disponibilizar muito tempo para tentar assegurar algum *stock*.

- **Venda de MNSRM em parafarmácias**

A venda de medicamentos não sujeitos a receita médica nas parafarmácias e muitas vezes a PVPs mais competitivos resulta em que os utentes prefiram comprar nesses estabelecimentos. Uma vez que as farmácias têm maior margem sobre estes produtos, se não conseguirem ter tantas vendas vai aumentar o prejuízo da farmácia.

- **Receitas manuais**

Embora existam cada vez menos receitas manuais, ainda é uma realidade da FC. Durante o meu período de estágio, tive contacto com algumas receitas manuais durante o atendimento e em alguns casos senti dificuldade em entender o que estava escrito. Para além da escrita, como as receitas não são eletrónicas necessitam de um tratamento especial posteriormente. Tem de se fazer a sua confirmação várias vezes e no final do mês tem de se emitir um resumo e enviar para o Centro de Conferência de faturas (CCF).

- **Aconselhamento gratuito**

Uma realidade da FC é o aconselhamento gratuito. Ao contrário da consulta médica que é paga, o utente quando se dirige a uma farmácia para obter qualquer tipo de esclarecimento fá-lo de forma gratuita. Como já dito anteriormente, as parafarmácias praticam preços inferiores aos da FC, porém o utente prefere ter um bom esclarecimento, que apenas encontra na FC. Assim, no dia-a-dia somos muitas vezes confrontados por utentes que pedem esclarecimentos, mas no final compram o produto noutra estabelecimento. Isto traduz-se

numa perda de tempo de trabalho do farmacêutico em que não existiu retorno a nível financeiro.

- **Venda de medicamentos online**

Desde a pandemia da COVID-19 que tem vindo a aumentar a dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica, por entidades que não são farmácias, de forma virtual. Na minha opinião, este tipo de entidades que entregam comida não têm competências para a dispensa de medicamentos, mesmo que estes sejam de venda livre. Todo o tipo de medicamento requer um uso racional e no momento em que se adquire é crucial haver um farmacêutico para informar e responder a quaisquer dúvidas que possam existir por parte do utente. Assim, quando um serviço desses vai à farmácia fazer de intermediário para entregar ao utente, perde-se o contacto principal entre utente-farmacêutico.

#### **4. Conclusão**

O estágio na Farmácia Oudinot permitiu-me consolidar diversos aspetos que aprendi durante o MICF. É crucial a etapa de pôr em prática aquilo que aprendemos previamente. Durante o estágio tive a oportunidade de abranger as minhas áreas de conhecimento, como a dermocosmética e veterinária. No início foram áreas que me senti um pouco desconfortável durante o atendimento, uma vez que sinto que é uma lacuna do MICF, mas à medida que o estágio foi avançando permitiu-me ganhar mais confiança para qualquer tipo de situação.

A farmácia comunitária é, normalmente, a primeira linha de saúde onde o utente se dirige. Os utentes procuram na farmácia diversos aspetos, desde aconselhamento a necessidade de falar. Assim, a figura do farmacêutico comunitário é vista com bastante proximidade e, por isso, torna a sua profissão bastante importante.

Por fim, gostaria de agradecer a toda a equipa da Farmácia Oudinot, uma vez que sem a ajuda, disponibilidade e carinho iria ser muito mais difícil superar todas as dificuldades que fui sentindo ao longo do estágio. Na minha opinião não poderia pedir um melhor estágio.

## 5. Casos Práticos

### Caso I

Senhora de cerca de 50 anos na menopausa que se dirige à farmácia à procura de um produto para os músculos, fadiga, articulações e colagénio para a pele.

Aconselhei o Arkoflex dolexpert forte<sup>®</sup>, um suplemento que tem na sua constituição colagénio, proteínas, ácido hialurónico, cloridrato de glucosamina, vitamina C, B, K, magnésio, curcuma entre outros.

O magnésio ajuda no funcionamento normal dos músculos, a vitamina C contribui para a formação de colagénio e para o funcionamento normal dos ossos, cartilagens e pele. A curcuma contribui para a flexibilidade e o bem-estar articular e o cálcio para a manutenção dos ossos (5).

### Caso II

Senhora que se dirige à farmácia para encontrar uma solução para a filha de 18 anos que tem bastante congestão nasal associado a alergias.

Aconselhei o Rhinomer<sup>®</sup> força 2 para lavagem nasal diária associado ao Vibrocil alergias<sup>®</sup> durante 7 dias.

O Rhinomer<sup>®</sup> consiste numa água do mar isotónica para limpeza diária do nariz. O teor em cloreto de sódio é baixo, para ser compatível com a mucosa nasal, aspeto a diferir de uma água do mar hipertónica, em que a concentração de cloreto de sódio é superior, usada em casos agudos (6). Nesta situação, como a menina se queixa constantemente de congestão nasal, optei por uma solução de uso diário associado a um tratamento agudo.

Rhinomer<sup>®</sup> pode ser usado como prevenção diária com a aplicação de 1-2 vezes ao dia, enquanto o tratamento agudo se faz com a aplicação de 4-6 vezes por dia. É importante inclinar a cabeça aquando da administração e assoar posteriormente. O aplicador deve ser lavado devidamente com água quente e seco (6).

Vibrocil alergias<sup>®</sup> é indicado em adultos com idade igual ou superior a 18 anos em casos de alergias. Recorre a um corticosteróide, propionato de fluticasona (50 microgramas/dose), que quando usado diariamente tem uma ação anti-inflamatória. A administração é feita uma vez por dia, preferencialmente de manhã, com duas aplicações em cada narina. Primeiro, deve-se assoar o nariz e agitar o recipiente. deve-se tapar a narina contrária à que está a ser aplicada e inclinar a cabeça um pouco para a frente (7).

### **Caso III**

Senhora com cerca de 23 anos que apresenta dor de garganta e tosse. Quando questionada se a tosse era com expetoração ou irritativa, respondeu com dúvida que era irritativa. Ainda não estava a tomar nada.

Questionei se era alérgica a anti-inflamatórios e aconselhei Strephen<sup>®</sup> mel e limão e Grintuss<sup>®</sup> xarope. Adicionalmente, recomendei a ingestão de água e para evitar ingerir bebidas ou muito quentes ou muito frias.

Strephen<sup>®</sup> mel e limão são pastilhas usadas na dor e inflamação da garganta devido à ação do seu princípio ativo, o flurbiprofeno (8,75mg), um anti-inflamatório (8). A pastilha deve mover-se dentro da boca para evitar irritação local. O tratamento tem máximo de 3 dias e pode-se tomar no máximo 4 pastilhas por dia, ou seja, com intervalo de 3-6 horas.

Grintuss<sup>®</sup> xarope é recomendado em crianças a partir dos 12 anos em todos os tipos de tosse. Uma vez que serve para tosses irritativas e expetorantes achei adequado face à dúvida da utente. Na sua composição estão contidos o mel e um complexo de resinas, polissacarídeos e flavonoides com ação de proteção da mucosa contra agentes irritantes. Recomenda-se a toma de 10ml que corresponde a 2 colheres doseadoras 2 a 4 vezes por dia, sendo que a última toma deve ser feita antes de deitar (9).

### **Caso IV**

Criança com 2 meses com problemas de obstipação há dois dias.

Aconselhei Bebegel<sup>®</sup>, um laxante de contacto. Porém, antes de experimentar introduzir o princípio ativo aconselhei a tentar da seguinte forma:

1. Tirar a cânula;
2. Humedecer a cânula com a glicerina;
3. Abrir a parte que contém o princípio ativo com uma tesoura;
4. Aplicar.

Apenas a estimulação da aplicação com a glicerina deve ser suficiente para melhorar os sintomas do bebé. Porém, se não melhorar recomendei administrar o produto de forma integral. Este medicamento não deve ser utilizado em mais de 3 dias consecutivos, referenciando o caso para um médico (10).

## **Caso V**

Criança com cerca de 10 anos que se queimou no peito com sopa. Aconselhei o uso de Tiritas<sup>®</sup> Medical Queimaduras, que são impregnadas com hidrogel, favorecendo a cicatrização (11). Adicionalmente, recomendei o uso de Biafine<sup>®</sup>, uma emulsão óleo de trolamina (0,670g) para queimaduras, favorecendo o processo de cicatrização (12).

## 6. Bibliografia

1. Exclusivas Iglesias- Sistema de gestão de dinheiro - CashGuard [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.exclusivasiglesias.com/farmacia/pt/productos/sistema-de-gestao-de-dinheiro-ref-cashguard/>
2. Glintt- Consultoria de Projeto [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/BusinessConsulting/Paginas/Consultoria-de-Projeto.aspx>
3. Santos, H. - Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária.
4. CEDIME Informa - Serviço de Administração de Vacinas e Medicamentos Injetáveis. 2023.
5. Arkopharma - Arkoflex® Dolexpert Forte 360o [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkoflexr-dolexpert-forte-360o>
6. Rhinomer - Força 2 | Produto [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.rhinomer.pt/produtos/rhinomer-forca-2.html>
7. INFARMED. RCM Vibrocil Alergias. 2021;
8. Strepfen PT - Pastilhas Garganta Inflamada Mel Limão [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.strepfils.pt/produtos/dor-de-garganta-e-garganta-inflamada/strepfen-mel-e-limao/>
9. Aboca - Grintuss Xarope Adulto [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.grintuss.pt/grintuss/grintuss-adult-xarope/>
10. INFARMED- bebegel. 2005;
11. Hartmann- Tiritas® MEDICAL Queimaduras. [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.hartmann.info/pt-pt/produtos/primeiros-socorros/tiritas%C2%AE-medical---para-uso-dom%C3%A9stico/tiritas%C2%AE-medical/escoria%C3%A7%C3%B5es-queimaduras--hemorragias-ligeiras/tiritas%C2%AE-medical-queimaduras#products>
12. BIAFINE- O que é o BIAFINE® e para que é utilizado [Acedido a 26 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.biafine.pt/o-que-e-biafine>

# Monografia

“Insights into Glyphosate effects in neurological diseases”



Sob a orientação da Professora Doutora Angelina Pena

## Abbreviation list

AAT	Aspartate Aminotransferase
Ach	Acetylcholine
AChE	Acetylcholinesterase
AD	Alzheimer's disease
ADHD	Deficit Hyperactivity Disorder
ADI	Acceptable Daily Intake
ALT	Alanine Aminotransferase
AMPA	Aminomethyl Phosphonic Acid
AOEL	Acceptable operator exposure levels
ASD	Autism Spectrum Disorder
AST	Aminotransferase
ATP	Adenosine Triphosphate
BBB	Blood-Brain Barrier
$C_{max}$	Maximum Concentration
CNS	Central Nervous System
CYP	Cytochrome
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECHA	European Chemicals Agency
EFSA	European Food Safety Authority
EPSP	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthetase
FDA	United States Food and Drug Administration
G6PD	Glucose-6-phosphate Dehydrogenase
GABA	Gamma-aminobutyric acid
GBH	Glyphosate Based Herbicides
GDH	Glutamate Dehydrogenase
GGT	Gamma-glutamyl Transpeptidase
GLY	Glyphosate
HBM	Human Biomonitoring
HBM4EU	Human Biomonitoring for Europe
IARC	International Agency of Research on Cancer
L-VDCC	Voltage-dependent Calcium Channels
LOD	Limit of Detection



MIR	MicroRNA
Mn	Manganese
NMDA	N-methyl-d-aspartate
PD	Parkinson's disease
PEP	Phosphoenolpyruvic Acid
Pi	Inorganic Phosphorous
POEA	Polyethoxylated Tallow Amine
PTM	Post-translational Modifications
RAR	Renewal Assessment Report
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
TCC	Triclocarban

## Resumo

As fórmulas à base de glifosato são o herbicida mais usado atualmente. Com o aumento exponencial do seu uso foi também aumentando a preocupação quanto ao seu impacto na saúde do ser humano. Apesar de se afirmar que o herbicida não tem consequências no ser humano uma vez que o seu mecanismo está descrito por atuar na via do ácido chiquímico, resíduos de glifosato têm sido encontrados em Humanos e nos alimentos. Para além desta via, também tem sido descrito que o glifosato atua por outras vias.

A incerteza do conhecimento prévio é uma das razões para as formulações à base de glifosato precisarem urgentemente de estudos mais complexos. Porém, o elevado número de ocorrências de doenças neurológicas, como por exemplo o autismo (a par com o aumento do uso de glifosato) e relatos de indivíduos que tiveram expostos ao herbicida também fazem parte da lista de preocupações que levaram ao aumento do número de estudos.

Com esta revisão constatou-se que são necessários muitos mais estudos científicos sobre a exposição crónica ao glifosato e recorrendo a um maior número de indivíduos. De acordo com os mecanismos descritos, o glifosato realmente tem impacto em outras vias cruciais para o ser humano e, por isso, é obrigatório perceber como é que isso nos pode afetar. Concluiu-se que não existe de todo um consenso sobre este assunto e uma vez que se trata de Ciência, é imperativo trabalhar-se com factos.

**Palavras-chave:** Glifosato, Doenças Neurológicas, Alzheimer, Autismo, Parkinson, Herbicida, Pesticida, Agricultura.

## **Abstract**

GBH are the most widely used herbicide. As it's use is exponential increasing, the concern about glyphosate's impact on human health has also increased. Although it is stated that glyphosate has no consequences in humans since it's mechanism relies on the shikimic acid pathway, it has been found in Humans and food. In addition to this pathway, glyphosate has also been reported to act via other pathways.

The uncertainty of previous knowledge is one of the reasons why GBH are in imperative need of more complex studies. However, the high number of occurrences of neurological diseases, namely autism (along with the increase in the use of glyphosate) and reports of individuals who have been exposed to the herbicide are also part of the list of concerns that led to the increase in the number of studies.

In this review, it was found that more scientific studies are needed about chronic exposure to glyphosate and should resort on a greater number of people. According to previous studies, glyphosate actually impacts other crucial pathways for humans and so it is crucial to understand how it can affect us. It was concluded that there is no consensus on this subject and since it is a branch of Science, it is imperative to work with facts.

**Keywords:** Glyphosate, Neurological Diseases, Alzheimer, Autism, Parkinson, Herbicide, Pesticide, Farming.

## **1. Introduction**

Glyphosate is an herbicide used to kill weeds. One of the reasons for the high consumption may be due to the introduction of transgenic tolerant crops, which means that glyphosate only acts on weeds.

Its properties as an herbicide were discovered by John Franz in 1970. In 1974, Monsanto developed an GBH known as Roundup®(1).

Glyphosate's mechanism of action relies on inhibiting the shikimic acid pathway, which does not exist in humans and therefore it has always been claimed that it has no repercussions in them (2). However, the number of cases of autism has been increasing along with the increase of GBH's use (3). Thereby, several scientific studies have been developed focusing on neurotoxic and carcinogenic effects. The increase of new studies and its conclusions generated a huge controversy on the scientific community.

As the studies increased, the mechanism of action started to be not as direct as mentioned before. Studies found that GBH affects other pathways, such as manganese, acetylcholine, glutamate and others, which will be discussed later in this work.

## **2. General information**

### **2.1. Pesticides**

Pesticide is defined as a chemical or biological compound used to kill, repel, prevent, destroy, control, or attract a biologic organism, such as animals or plants, considered to be pests (4).

There are several types of pesticides, the most common are insecticides, rodenticides, fungicides and herbicides (5). In the last years, the safety of pesticides has been studied more carefully. The non-persistent pesticides can be easily destroyed due to exposure to light, although they are the safest to be used in food (6).

### **2.2. Herbicides**

Herbicides are pesticides used to destroy unwanted plants, by controlling their growth/birth. They can be chemical or mechanical. Herbicides can be classified according to their use, mechanism of action, chemical group, activity, or types of controlled plants.

Weed's chemical control has been used for a long time, resorting to sea salt, industrials by-products and oils. The first big chemical herbicide used was Sinox, developed in France

(1896). At the end of the 40's, more recent herbicides were developed, during the Second World War. Thus, almost 100 products were developed in 20 years. Although the newest herbicides allow to have a more effective control in lower dosages like 2 Kg per hectare, they are the most toxic ones (7). Although nowadays organic herbicides are more used, inorganic's were the first, such as sulfuric acid. For the last few years, regulatory pressure has increased, resulting in a greater difficulty to find the perfect herbicide. Herbicides resistance is another current problem that we face nowadays. Weed's association are always changing, so we must have a clear goal (8). Herbicides advantages are described to be quick action and low cost. On the other hand, environmental contamination and weed's resistance are disadvantages.

As for the classification, they can be divided in selective (effects on specific weeds) and non-selective (9). They can also be divided in topic (pulverization) and systemics (relies on translocation, where the action takes place both near and far from the place where the product has been injected) (10) and according to their action mechanism: enzymatic (directly on the enzyme) and non-enzymatic (without binding to enzymes, they change the metabolic event) (10). Before application, we must consider two crucial factors: soil humidity and climate.

### **2.3. Organophosphorus compounds**

Organophosphorus pesticides are organic compounds that contain phosphorus-carbon bonds, which are thermally stable. They can be classified according to their coordination number and oxidation state of the phosphorus atom (11). In contrast to the organochlorine's, organophosphorus have a greater toxicity in mammals (12).

As the carbamates, organophosphorus pesticides are known to inhibit acetylcholinesterase (AChE), which is responsible for acetylcholine's swiftly degradation. ACh is involved in nerve impulse transmission (13).

Acetylcholinesterase is represented both in vertebrates as in invertebrates and it is in certain areas of central nervous system as well in organs and glands, which are controlled by the parasympathetic and autonomic nervous system.

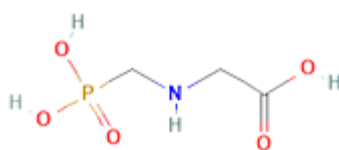
These compounds react with AChE, that contains serine hydroxyl moiety, which is phosphorylated. Therefore, the enzyme is decomposed, unable to exert it's effect. This results in constant nervous transmissions, due to Acetylcholine's presence, leading to a cholinergic crisis (14). There are also other molecules involved, that's why the secondary effects can be divided into cholinergic and non-cholinergic.

### 3. Glyphosate

#### 3.1 History

The first glyphosate product to be commercialized was in 70s by Monsanto company, under the name of Roundup® for the non-selective weed's control. Glyphosate was created before that, but without knowing its herbicide activity, which was found by Monsanto (15).

Some years later, glyphosate resistant crops were introduced, in order to decrease farmer's concerns. Thereby, the product's mechanism of action was only applied on the unwanted part, saving the crops. Some examples of resistant crops are corn, soy, canola and sugar beet (15).



*Figure 1. Chemical Structure of Glyphosate (16).*

#### 3.2 Physical and Chemical Properties

Glyphosate is a synthetic, volatile, colorless, odorless, crystalline solid or powder organophosphorus compound. It's exposure occurs by inhalation, contact or ingestion. Glyphosate's molecule has high polarity, therefore glyphosate is very soluble in water and insoluble in organic solvents (16).

*Table 1. Properties of Glyphosate (16).*

<b>Molecular Formula</b>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P
<b>Chemical Safety</b>	Corrosive, Environmental Hazard
<b>Molecular Weight</b>	169.07 g/mol
<b>Melting Point</b>	230°C
<b>Solubility in water (20°C) at pH 1.9</b>	10.5 g/L
<b>Solubility in organic solvents</b>	Practically insoluble
<b>Density</b>	1.7g/cm <sup>3</sup>

#### 3.3 Mechanism of Action

Glyphosate is a systemic, non-selective and post-emergence herbicide (17) (18) that is absorbed by the leaves, as they are chlorophyll-containing parts of the plant. (19). Glyphosate inhibits 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthetase (EPSP), an enzyme that catalyses the

sixth step of the shikimic acid pathway, which is responsible for catalysing phosphoenolpyruvic acid (PEP) and 3-phosphoshikimic acid into 5-enolpyruvyl-3-phosphoshikimic acid (2). Therefore, glyphosate blocks this step, competing with PEP for the bond to enzyme's active site (2). Shikimic acid pathway is responsible for the synthesis of aromatic amino acids in plants, fungi and some microorganisms. Therefore, there will be a decrease of amino acids, such as tyrosine, phenylalanine and tryptophan, as well as proteins, leading to the death of the target organism in few days (20). Glyphosate is the only known inhibitor of the shikimic acid pathway (2).

It was assumed that glyphosate doesn't have any effects on mammals because they don't have EPSP enzyme. However, some studies have found parts-per-billion concentrations on food and animals, which lead scientists to study further and find out that glyphosate also acts on other pathways. For example, is involved on Cyp450 aromatase and cholinesterase inhibition (20). Apart from the aforesaid, there are not enough studies to indicate the toxicology on long-term of the low glyphosate residues in vertebrates (21).

### **3.4 Formulations**

Glyphosate in formulations is presented in the form of salt, namely ammonium salt, isopropylamine and potassium (22). The most known brand is Roundup<sup>®</sup>, which resorts to ammonium salt of glyphosate (23).

Thus, the formulations are made of glyphosate salt, which is the active principle, and adjuvants, which enhance herbicide action by facilitating penetration into plant tissues (24) and increase the effectiveness of the herbicide, and consequently the toxicity. Among the adjuvants the most important are surfactants, foam formation inhibitors, dyes, among others. The most controversial ones have been the surfactants, which are compounds that increase wettability and facilitate the absorption of the herbicide by the plant, and consequently the toxicity (22). The most used and controversial surfactant is polyethoxylated tallow amine (POEA) (20). POEA has high toxicity, therefore more studies need to be made in order to determine whether toxicity is due to glyphosate alone, its adjuvants, or result of a synergistic effect (26). However, since the herbicide's composition is confidential, it is difficult to understand the contribution of co-formulants to the toxicity (24).

### **3.5 Market**

Glyphosate is considered to be safer than other herbicides, but lately many studies have shown that glyphosate has chronic effects. Tolerant crops, such as in corn or soy, are

the main reason of its wide use. In 2016, Glyphosate's market was valued in 23.97 billion dollars. In 2023 increased to 8.5 billion dollars (27).

## **4. Glyphosate Toxicokinetics**

### **4.1 Absorption and excretion**

According to the study made by ROBERTS *et al.* (2010), glyphosate has a very quickly absorption with peak concentration occurring within 4-6 hours after consumption and an elimination half-life about 3.1 hours (44).

### **4.2 Biodegradation**

Glyphosate's biodegradation depends on several factors, such as physical, chemical and biologic properties and soil decomposition (28). The main biodegradation pathway is held by plants and microorganisms, both aerobes and anaerobes, such as *Pseudomonas sp.* (LBr strain) (29). Oxidase enzyme breaks the carboxymethylene-nitrogen bond transforming glyphosate into AMPA (aminomethyl phosphonic acid), Sarcosine and glyoxylate (27). AMPA is the main metabolite and Sarcosine is the intermediate metabolite (19).

Posteriorly, sarcosine, which is used by bacteria for growing, is converted into glycine due to sarcosine oxidase's activity. In contrast, in the presence of oxygen. AMPA is converted into Pi (inorganic phosphorous) and  $\text{CH}_3\text{NH}_4^+$ . (30). Due to high quantity of microorganisms on soil, glyphosate's biodegradation is faster on soil (19).

AMPA's laboratory determination metabolites is not easy, as its production is not only due to glyphosate, but can also be produced by bacterial metabolism (31).

## **5. Quantification of glyphosate and metabolites**

### **5.1 Samples**

The first thing to do before biomonitoring a chemical compound is to choose a biological tissue or fluid to collect based on the chemical and physical properties and, in some cases, the time interval since the last exposure (32).

Some compounds such as organochlorine pesticides can be found in fatty tissues, where they accumulate for months or even years, as they are lipophilic. On the other hand, organophosphorus pesticides such as glyphosate are volatile and therefore do not accumulate in adipose tissue (32) and are quickly excreted in urine (33).



Apart from urine and breast milk, hair is also a widely used sample to assess past exposures, as it allows for long storage and chemicals remain stable. (34).

## 5.2 Human Biomonitoring studies

Human Biomonitoring is crucial to understand the impact of chemicals by measuring their concentration. This method has been used in some countries for the last few years, such as in United States of America, Canada and Korea. The concern of using these products has been increasing so Europe started a program called HBM4EU (Human Biomonitoring for Europe) which gathered information of children, teenagers and adults of European countries. Glyphosate is going to be one of the chemicals that is going to be included in a phase 2 study (35).

A study carried out by FANIBAND *et al.* (2021) aimed to study the excretion of GLY and its main metabolite, AMPA, and also to determine their concentrations in urine samples of 197 18-19 years old Swedish young adults in 2017 after oral administration. The  $C_{max}$  was reached within 2h. Glyphosate was found in concentrations above the LOD of 0.1  $\mu\text{g/L}$  in 20% of the urine samples, while AMPA was found in concentrations above the LOD of 0.1  $\mu\text{g/L}$  in 29% of the samples (36).

On the other hand, a study made by NOVA *et al.* (2020) measured glyphosate and AMPA's concentration in 46 participants in a first round and 33 participants in a second round in Portugal. Most of the participants were non-smokers or pet owners and most of them used protective equipment while using pesticides. The results of first round determine that 28% and 50% presented detectable levels of glyphosate and AMPA respectively, with mean values of 0.25 and 0.16  $\mu\text{g/L}$ , while on second round, 73% and 97% presented detectable levels of glyphosate and AMPA respectively, with mean values of 0.13 and 0.10  $\mu\text{g/L}$ . Although glyphosate and AMPA's concentration values are below the under stipulated for safety, further studies are required because of the small sample size and high organic food intake (37).

## 6. Health concerns

As mentioned before, glyphosate is the most widely used herbicide today partly due to its mechanism of action. It is thought to be non-toxic to humans since it lacks the shikimic acid pathway (38). However, this idea has been outdated, as the mechanism of action is not so direct and it has been concluded, because it also acts in other pathways. In addition, with the introduction of transgenic crops tolerant to glyphosate, the use of GBH increased, because it only allowed to kill weeds, without damaging the crops (39).

Since 2001, GBH are the most used herbicides. Since then, there has also been an increase in cases of certain diseases such as autism (3).

Formulations can contaminate air, soil and water sources (40). The great use has led to an increase in studies on the toxicity of these formulations and one of the areas that have focused is neurotoxicity. It is important to remember that glyphosate-based formulations have other compounds and due to trade secret, the amount of each constituent remains unknown. Thus, toxicity may not be due to glyphosate alone, so neurotoxicity studies should also evaluate glyphosate alone.

Monsanto was obliged to pay compensation to an American couple, who had cancer due to their Roundup product, which they claimed to have had influence and there was no description of the danger on the product's packaging (41). Monsanto was bought by Bayer in 2018. In 2020, spent US\$10 billion to solve thousands of lawsuits connected to Roundup®(42).

This topic creates a huge controversy and, therefore, several studies have been carried out to determine the true effects of products based on glyphosate.

## **7. Toxicity**

### **7.1 Acute Toxicity**

Previous studies have stated that mortality from envenomation is approximately 7.7%. In the prospective study carried out by ROBERTS *et al.* (2010), which gathered all accidents with a history of GBH ingestion in two Sri Lanka's hospitals between the years of 2002 and 2007, determined that the mortality was 3.2% and that it took about 20 hours to reach the outcome. However, cases of death were associated with older individuals, higher intakes and concentrations of glyphosate at the time of admission (greater than 734 µg/ml). Symptoms such as gastrointestinal, oliguria, respiratory distress, hypotension and altered level of consciousness have been described in individuals who eventually died (43).

**Table 2.** Description of symptoms and Percentage of Individuals that were affected (44).

Symptoms's classification	Description	Percentage of individuals
Asymptomatic		27.6%
Less	Spontaneous resolution Nausea, vomiting, abdominal pain and sedation	63.7%
Moderate to severe	Requires intervention. Hypotension respiratory failure requiring intubation, ventricular arrhythmias or cardiac arrest, marked sedation or coma, convulsions and oliguria	5.5%
Fatal	Before death: gastrointestinal, oliguria, respiratory distress, hypotension and altered level of consciousness.	3.2%

## 7.2 Human exposure and occurrence in food

When glyphosate is in soil, it can be bind to particles, becoming biologically inactive, but it can also reach groundwater due to its high solubility in water. More recent studies determined that degradation of glyphosate in soil is difficult, leading to groundwater contamination (20).

The half-life of glyphosate in soil can range from 1 to 280 days, while AMPA, its main metabolite, ranges from 23 to 958 days. Light and temperature are reasonable explanations for the half-life variation values (20).

More recent studies confirmed the permanence of glyphosate in food and crops. Combining this information with the fact that glyphosate is the most widely used herbicide, population is chronically exposed to glyphosate. To confirm this, determinations are made in urine and organs of farm animals and people (20).

Glyphosate and AMPA can be found in food, water and dust, which means that everyone could be exposed. Non-occupational exposure occurs through consumption of contaminated water, food or baths. (45).

ZHANG *et al.* (2019) confirmed that glyphosate and its metabolites were found in fishes, berries, vegetables or grains. GBH residues in food persist long after initial treatment and are not lost during baking (45).

Thereby, plenty of studies have been done to determinate the quantity of glyphosate in urine and consequently understand the level of exposure we have to glyphosate. Mean urinary glyphosate levels in occupationally exposed individuals range from 0.26 to 73.5 µg/L,

while urinary levels due to environmental exposure are considerably lower, 0.16 to 7.6 µg/L (46).

TRASANDE *et al.* (2020) led a study to determinate the amount of glyphosate in urine of newborns, infants and children and subsequently relate it to kidney function. Children are one of the most population groups vulnerable to the effects of herbicides, as they consume more food and water per unit of body weight. Furthermore, their organs are still developing. It was concluded that the mean urinary concentration of glyphosate was  $0.278 \pm 0.228$  µg/mL, with a range of 0.105–2.125 µg/ml. The herbicide was detected in 7.6–30% of the three cohorts, in which 30% of newborns have glyphosate exposure above the LOD (Limit of detection). It was also noted that 40% of children in the Early Starting cohort were overweight or obese (46).

In Germany, residues of glyphosate and AMPA were detected in about 1/3 of the study population, with concentrations of up to 1.36 µg/L for glyphosate and 1.53 µg/L for AMPA in urine (47).

### **7.3 Carcinogenicity**

The first Glyphosate product to be authorized was in 1974 in the United States by the Environmental Protection Agency and some years later, in 2002 was authorized in Europe by the European Commission. Glyphosate is used in more than 750 products and is the most widely used herbicide, making it's dissemination worldwide (47).

In March 2015, IARC (International Agency of Research on Cancer) reclassified glyphosate as potentially carcinogenic to humans, category 2a (27), which has not yet been approved by the European Union (20).

However, in November 2015, based on RAR (renewal assessment report) conclusion, EFSA described glyphosate as unlikely to be carcinogenic to humans. EFSA and ECHA affirm that GLY is safe as long as it's consumption is within these parameters: acceptable daily intake (ADI) for general population of 0.5 mg/kg and 0.1 mg/kg for acceptable operator exposure levels (AOEL) (37).

In October of 2017, European Parliament defends that glyphosate's use should be forbidden in December of 2022. The European Commission should adopt measures to progressively reduce glyphosate's use until December of 2022 and to assure that all studies are published peer-reviewed and independent by EFSA and ECHA (48).

In November of 2017, as the regulations were still not fully consensual, the European Commission extended the authorization of glyphosate for another 5 years (49). However, European Parliament objected this decision due to the latest results of articles and investigations (49).

In 2021, the regulation of the European Parliament and the European Commission became practicable. This regulation is based on four topics: greater transparency of studies, increase studies' independence, fortify the link between governance and scientific community and to develop risk communication (50).

In October 2022, another vote was taken. Glyphosate is now authorized until December 15 of 2023, as Germany and France abstained on voting (51). EFSA and ECHA concluded that glyphosate is not a carcinogenic, mutagenic or reprotoxic substance, however studies still have many gaps, therefore another version will be published in the summer of 2023 (52).

The main justification for this controversy it is the involved money on glyphosate's market. Thinking that glyphosate only affects the shikimic acid pathway, which does not exist in humans, is another justification to consider that glyphosate is completely safe. However, glyphosate inhibits acetylcholinesterase and induces oxidative stress (27).

Thus, it can be affirmed that this topic creates a huge controversy and, therefore, several studies have been carried out to determine the true effects of products based on glyphosate (49).

## **8. Neurological effects**

Several authors have described neurotoxic effects, such as hormonal imbalance proliferation/mitotic index alterations, deregulation of proteins and genes involved in endocrine pathways, oxidative stress, epigenetic disruption such as, alteration in DNA, methylation levels and/or histone post-translational modifications (PTMs) (39). Apoptosis, necrosis, oxidative stress, neuroinflammation, among others will be mentioned later (53). As the brain and nervous system are very sensitive, they can increase the risk of developing neurodegenerative diseases (54).

In addition to exposure to a common individual, studies have focused a lot on exposure during development (prenatal and postnatal), since the presence of neurotoxins during this

period, even in small concentrations, can cause much more serious damage in areas such as the prefrontal cortex and hippocampus, causing losses in cognitive functions (55).

In the next sub-chapters, different points where GBH can induce alterations will be discussed, such as in the pathways where glutamate, acetylcholine, intestine and others act. The evidence will be explained and demonstrated using pre-existing studies and their results.

## **8.1 Acetylcholine**

Acetylcholine is a neuromodulator neurotransmitter of the parasympathetic nervous system and it is responsible for vasodilatation of blood vessels, contraction of smooth muscle and reduction of heart rate. It's degradation is mediated by an enzyme, acetylcholinesterase (56). Acetylcholinesterase is an enzyme of hydrolases group (57).

The cholinergic system operates in certain functions, such as learning, memory, attention, among others. Thus, a dysregulation of the cholinergic system may be involved in the cognitive decline of dementia and Alzheimer's disease. Acetylcholinesterase inhibitors are used as therapy in Alzheimer's disease (58). In this chapter, the potential consequences on the cholinergic system due to GBH will be discussed.

PALAS *et al.* (2014) studied the activity of acetylcholinesterase during a glyphosate 30-day exposition in two types of fish. The study was made under laboratory conditions and resorted to muscle, brain and spinal cord samples. The results confirmed that acetylcholinesterase activity was increased in all samples, which reached maximum levels in the brain. The increase of acetylcholinesterase activity can be explained by accumulation of acetylcholine substrate in the brain, causing overstimulation of receptors and leading to induction of lipid peroxidation, which can lead to cell injury. Thus, there may be repercussions at the level of cholinergic neurotransmission (59).

In contrast, GLUSCZAK *et al.* (2006) studied the effect of GBH also in Teleosts (their biochemical responses are quite similar to those found in mammals). Contradicting Palas's *et al.* (2014) study, here the exposure was acute, which means, they had a 96-hour exposition and then they were evaluated. The results were also different, as a decrease in AchE activity in the brain was observed (60).

Acetylcholine is able to bind to two types of receptors, muscarinic and nicotinic. The binding to nicotinic receptors will influence the release of other neurotransmitters, such as glutamate, serotonin and norepinephrine, which are related to memory and mood (59). Thereby, more studies are needed to determine what actually happens to acetylcholinesterase.

The variation of the results may be due to several factors, such as exposure time and kind of animals used. However, we can confirm that GBH has an effect on the activity of AchE.

## 8.2 Manganese

Manganese is an essential metal (61), which performs very important functions, such as antioxidant protection, glutamine synthesis, bone development and sperm motility, among others. However, as it is neurotoxic, it should only exist in trace amounts. Recommended intake values are 2 mg/d for adults and 1.2-1.5 mg/d for children, while maximum levels are 9-11 mg/d for adults and 2-6 mg/d for children (61).

Variations in the amount of Mn have been studied as factors for the development of certain diseases, such as autism, Alzheimer disease, among others (3). As previously mentioned, the interruption of the shikimic acid pathway by glyphosate is due in part to the chelation of Mn, which functions as a catalyst (2).

KRUEGER *et al.* (2013) gathered 8 farms with fifteen cows each to test glyphosate in urine and the presence of elements, such as manganese. The results confirmed that all cows excreted glyphosate in their urine, while manganese was far below the reference level. These results corroborate that there is no sufficient manganese for proper functions and immune response (62).

Glyphosate can lead to both Mn deficiency and toxicity. In recent studies, glyphosate has been shown to inhibit liver CYP enzymes, specially CYP2C9, which is involved in manganese metabolism (63).

Thus, if Mn cannot be properly metabolized, which means, eliminated, it will concentrate through the vagus nerve to the brainstem nuclei, potentially leading to Parkinson Disease. So, there will be an excess of Mn in the brainstem, but in the rest of the brain there it will be lacking in Mn. The lack of manganese is dangerous, because Mn is very important in the hippocampus, as the deficit can cause convulsions, which are found in children with autism (64).

The liver regulates the concentration of Mn in the circulation, incorporating excess into bile acids, leading to the possibility of gut bacteria, such as lactobacillus, to use the Mn. However, the production of bile acids is dependent on CYP enzymes, which in turn have their

activity reduced due to GBH, leading to the accumulation of manganese in the liver, since it cannot be incorporated into bile acids (3).

Manganese decreases T2 relaxation time, a signal measured in epilepsy. So, the lack of manganese may result in an increase of the T2 relaxation time, resulting in epileptic seizures (65) which are common in autism spectrums. Hurley *et al.* (2022) found that rats lacking Mn are more likely to have seizures (66).

### **8.2.1 Lactobacillus**

Lactic acid bacteria produces ROS and therefore cells have developed protective mechanisms against oxidation damage using certain enzymes such as superoxide dismutase (SODs) and hyperperoxidases (67).

SODs can have 3 different forms depending on their metallic centre, which can be Mn, copper-zinc and iron. Most lactobacillus, which are good probiotics, use the Mn metal centre SODs (67). Thereby, lactobacillus need high amounts of manganese, since they need manganese's antioxidant protection for surviving. Lactobacillus are crucial on anxiety, a comorbidity of autism (3) and to oppose to salmonella's infections (68).

It was demonstrated that mice who use lactobacillus as probiotics have better mood control (69).

Lactobacillus are GABA producers through glutamate decarboxylase (69). GABA is an inhibitory neurotransmitter, which induces tranquilizing, anti-convulsant, anti-anxiety effects, which means, it slows down brain activity (70). Thereby, a lack of GABA can lead to trouble sleeping, tiredness, anxiety and panic attacks, common symptoms in autism spectrums (71).

In conclusion, there is a correlation between Mn chelation by GBH and a deficit in the activity of lactobacillus, that make part of our gut bacteria, leading to a lack of GABA, higher incidence of salmonella infections, among other factors that can culminate in neurological problems (3).

### **8.3 Glutamate**

Glutamate is a neurotransmitter responsible for excitatory synaptic signalling in the brain, which affects memory, learning and other physiological processes. Thus, high levels of glutamate can lead to neuronal cell death, also known as excitotoxicity, which is involved in

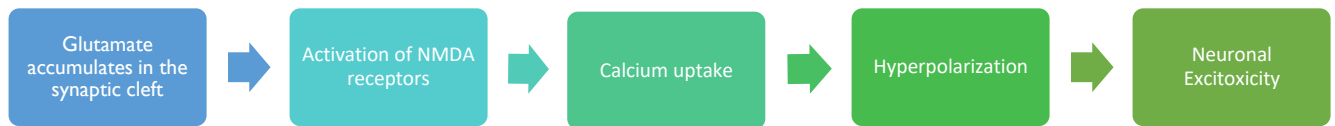


several neurodegenerative diseases, such as autism, Alzheimer, Parkinson and amyotrophic lateral sclerosis (3) (72).

A study led by CATTANI *et al.* (2014) uses immature rats to test acute exposure (30 minutes) and pregnancy and lactation rats to assess chronic exposure to GBH (53). It has been shown that Roundup® when exposed to acute amounts has an impact on reuptake, release and metabolism of glutamate, resulting on an increase of calcium influx through N-methyl-d-aspartate (NMDA), glutamate receptors and voltage-dependent calcium channels L-VDCC (73). This exposure (30 minutes at 0.01% Roundup) also leads to glutamate excitotoxicity in immature rat hippocampus (PND 15) and decreased glutamate uptake (39) at the glial cell level (73). On the other hand, metabolism of glutamate to glutamine is decreased in astrocytes, increasing the amount of glutamate in the synaptic cleft (excitotoxicity). GBH also seems to inhibit, in the hippocampus, the enzymes aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), which are also involved in the metabolism of glutamate. The state of excitotoxicity leads to a decrease in GSH and increases lipoperoxidation in the CNS (73).

After its release into the synaptic cleft, glutamate is taken up by microglia in the brain and converted into glutamine, an inactive molecule as a neurotransmitter. Glutamine is subsequently released into the extracellular space, which is taken up by neurons and converted back to glutamate by phosphate-activated glutaminase, which will be retained in internal vesicles for future use. Glutamine synthetase has manganese as a cofactor. Glutamate can also be metabolized using other pathways, which are based on the enzymes aspartate aminotransferase (AAT) and glutamate dehydrogenase (GDH) (74).

Thus, the lack of Mn leads to an excess of glutamate in the brain with aconitase deficiency and together they contribute to the production of ATP by cells, using glutamate instead of glucose (3). Samsel reported that in autism situations, glutamate and homocysteine's levels are high in serum, while glutamine and tryptophan's levels are low. Tryptophan depends on acid shikimic pathway and it is serotonin and melatonin's precursor. High levels of homocysteine are related to a lack of folic acid, which is produced by *Lactobacillus* (3).



**Figure 2-** Glutamate's Excitotoxicity Pathway (74).

## 8.4 Urea Cycle

Ammonia is a neurotoxin capable of crossing the BBB, which is accumulated when the urea cycle is unable to keep up with ammonia released from breakdown proteins. Excess ammonia can induce memory loss, brain edema, tremors, coma and death. One of the main enzymes used in urea cycle is arginase, which depends on manganese as a co factor (3).

If urea cycle is not completed, arginase (final enzyme) will not be produced. GORKER *et al.* (2005) reported a 4-years-old case that was diagnosed with urea cycle disorder and arginase deficiency. She had mental retardation similar to autism. Symptoms include lack of attention and appetite, occasional hyperactivity and aggressive behaviours (75).

## 8.5 MicroRNA

MicroRNA, as known as MIRs, are short RNA molecules specialized in regulating gene-expression post-transcriptionally. They can act as silencers for therapeutical purposes as they are able to target key pathways (76).

Some studies showed that Mirs are dysregulated in several types of diseases, including ADHD (Deficit Hyperactivity Disorder) and ASD (Autism Spectrum Disorder). For example, in a study made by Kandemir *et al.* (2014), the levels of MiR18a-5p, miR22-3p, miR24-3p, miR106b-5p and miR107 were significantly decreased in ADHD patients compared to control group (77).

A study has been made to determined how Mirs are involved in glyphosate's mechanism of neurotoxicity. Half of the dose regularly used of GBH was administered on mice. The results confirmed that some types of Mirs involved on brain development were dysregulated (78).

## **8.6 Behaviour tests *in vivo***

Some tests were performed to assess depression, anhedonia and locomotion in offspring on PND60 at sub chronic GBH exposures. In the forced swimming test, the depressive-like behaviour was evaluated, and it was found that the climbing time has decreased, which means, they remained immobile for longer, suggesting that a depressive-like profile was induced.

Anhedonia test was divided in two groups on a first phase, the control and experimental group, which were subjected to normal water and then water with sucrose. It was observed that there was no difference in consumption between the two types of water.

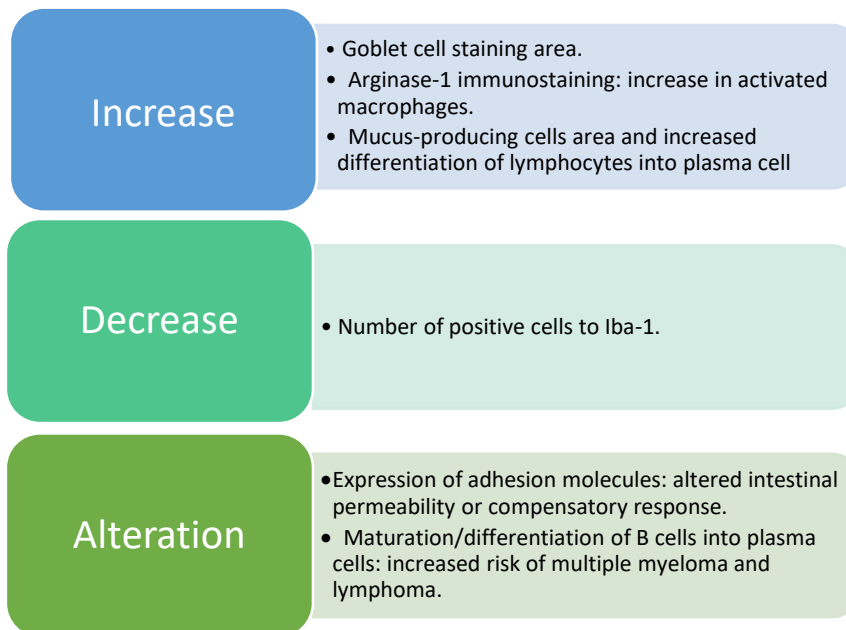
Finally, the locomotion test was performed in an open field arena. No differences were noted between groups in total distance covered, time spent in the central zone or in the latency to fall (39).

## **8.7 Intestine**

It is no coincidence that intestine is said to be our second brain. In fact, changes in intestine or it's barrier have consequences at brain level, thus evoking the concept of the brain-gut axis. I'm sure we've all felt that when we're more depressed or anxious, we're also having intestinal problems, like tummy aches, changes in stools or colic. More recently, the concept of the axis was extended to the microbiota-intestine-brain axis, which means, the bacteria that reside in our intestine and their alterations can have repercussions in the brain.

Therefore, studies have been carried out to understand the changes that occur at the intestinal level in cases of Parkinson's disease, Alzheimer's, autism, depression, drug addiction, stroke and amyotrophic lateral sclerosis (79). So, this chapter will focus on the influence that GBH have on the intestine and later on how it can be related to psychological problems, which the relationship has already been studied.

CASTILO *et al.* (2022) studied the effects on the gut/microbiome upon lifetime exposure to GBH at low doses. Pre-existing studies claim that GBH can cross the intestinal barrier. The results demonstrated that mice exposed to GBH had an increase in mucus-producing cells in the intestine and an alteration of leukocytes. Thus, there was also an imbalance in the production of proteins that constitute the intestinal barrier. These mice developed repetitive behaviour and decreased social behaviour (80).



**Figure 3:** Effects on gut/microbiome (80).

## 8.8 Oxidative Stress

The imbalance between production and elimination of reactive oxygen species (ROS), leading to their accumulation is known as oxidative stress. Several neurological diseases such as Parkinson disease, Alzheimer disease, depression and others have been linked with oxidative stress (81).

It is reported that glyphosate induces oxidative stress in hippocampus, substantia nigra and cerebral cortex of immature rats. The mechanism involves the consumption of glutathione and the inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD). Without G6PD there will be a decrease in NADPH's ability to reduce glutathione, limiting GSH production, resulting in oxidative stress (73).

CNS is more vulnerable to free radicals, increasing Alzheimer and Parkinson's development risk.

## 8.9 Parkinsonism

Only 10-15% of total cases of Parkinsonism include Parkinson Disease. Parkinson is a progressive neurodegenerative disease due to lack of dopamine in the brain, whereas parkinsonism can be the result of numerous causes as side effects of medication, metabolic diseases, among others (82).

Over the past two decades, the number of Parkinsonism's cases have been increasing along with the consumption of GBH (3). This condition is caused by brain changes, injuries,

medication or toxins. People with parkinsonism, like those with Parkinson's, experience tremors, muscle stiffness, slow movement and balance problems (82). Parkinson's disease comes from the loss of dopamine production capacity. Therefore, parkinsonism is a group of diseases with distinct causes with symptoms that are common in Parkinson's (82).

There are already several studies / cases that connect the relationship between exposure to glyphosate and symptoms of Parkinsonism. For example, Barbosa *et al.* (2001) reports a case of a 54-year-old man who accidentally sprayed himself with glyphosate. After 6 hours he had skin lesions. One month later he developed parkinsonism syndrome. Two years after the accidental exposure, he took a magnetic resonance that presented changes in the substantia nigra. He was treated with levodopa/benserazide, which led to satisfactory results (83).

Also, WANG *et al.* (2011) reports a 44-year-old case of a healthy woman that worked in a production of glyphosate's division of a factory. Daily, she used basic protection, which consisted of a gown and a mask. During the time she worked there, she often felt weak and tired, and two months before starting the study, she felt dizzy and had blurred vision. During the study, rigidity, tremors at rest and global akinesia were also observed. It was concluded that the woman had secondary parkinsonism syndrome. Since the woman was healthy and had no family history of neurological disorders, these symptoms were associated with glyphosate exposure. The symptoms presented have decreased with levodopa-based medication (84).

### **8.10 Alzheimer's Disease**

Alzheimer's disease is a progressive disease that leads to loss of memory and the ability to perform simple tasks. The most common features of the physiopathology of the disease are the selective loss of cholinergic neurons, neurofibrillary tangles, neuroinflammation and the formation of amyloid plaques. Initially, the affected area is the hippocampus, a part of the brain involved in memory. Subsequently, it will affect the cerebral cortex, which is responsible for reasoning, learning, social behaviour and language (85).

The typical lesion presented in Alzheimer's disease often comes from the action of free radicals, such as damage to DNA, protein oxidation and lipid peroxidation. Characteristic beta-amyloid tangles produce free radicals and are also stimulated in their presence (86).

The physiopathology of Alzheimer's Disease comprises the formation of amyloid plaques. When the amyloid protein is cleaved by the wrong enzyme, it generates A $\beta$  peptides,

which travel outside the cell, turning into oligomers, that agglomerate into amyloid plaques (85).

In a study made by WINSTONE *et al.* (2022) was concluded that high glyphosate levels in the brain are capable of reducing cell viability in neurons lost in Alzheimer's disease in groups of mice subjected to a dose of 40 µg/ml. It was also confirmed that exposure to glyphosate increases the amount of A $\beta_{40-42}$ . A $\beta_{42}$  has been shown to be one of the most toxic. After human death by Alzheimer's, it was concluded that the genes associated with oligodendrocytes were deregulated. Winstone *et al.* (2022) also tested and concluded that glyphosate modifies gene expression in a dose-dependent manner, meaning that it disrupts the levels of genes in oligodendrocytes (87).

The most relevant mechanism in Alzheimer's disease is neuronal loss. More recently, the hypothesis of necroptosis, a programmed neuronal death in cases of AD, has been studied. In previous studies it has already been found that in cases of Alzheimer's TNF- $\alpha$  is increased. Subsequently, TNF- $\alpha$  was found to lead to necroptosis (88).

#### **8.10.1 TNF-alpha**

The pro-inflammatory cytokine, TNF-alpha, is released by CNS microglia. Glyphosate is responsible for the increase of C-reactive protein in liver and an increase of TNF-alpha, which leads to cancer states, rheumatoid arthritis or neurodegenerative diseases such as AD (3).

### **9. Critical overview and discussion**

As mentioned before, the first glyphosate product to be authorized was in 1974 by Monsanto. In 1976, Bio-Test laboratories, an establishment responsible for testing the safety of drugs, chemical compounds, herbicides, among others, was indicted of fraud, which included falsifying data, replacing animals and excluding results. Monsanto's glyphosate and GBH have also been evaluated by Bio-Test, including chronic exposure testing (89).

However, only 4 products were put on trial, including Nema-cur (Inseticide), Sencor (Herbicide), the drug Naprosyn, the TCC antibacterial agent by Monsanto, but excluded GBH (90).

TCC has been studied by the FDA for inducing injuries in mice. TCC was produced by Monsanto to replace another product that had already been withdrawn from the market. To keep their position in that market segment, Monsanto needed to prove that TCC was safe.

According to some reports, the toxicology section of the Department of Medicine and Environmental Health's manager wrote statements that influenced the final TCC report and even pressured a scientist from Bio-test Laboratories, to modify the previously findings regarding the non-safety of TCC. Although this discussion was about TCC, this issue is considered crucial to this work, since glyphosate was one of the compounds related to this fraud. According to Monsanto, other tests were made on the Roundup product in accordance with FDA guidelines (90).

According to regulation 178/2002, which determines the general rules of food legislation, when there is uncertainty of food product risk, temporary measures must be taken until concrete information is available. Therefore, if the Principle of Precaution exists, why has it never been used on glyphosate? (95)

The question is: why glyphosate continue to be the most herbicide used in the world? some marketing aspects could be the answer, taking into consideration the effect on the population's opinion on glyphosate's safety. First, the fact that tolerant crops were introduced, which means that the herbicide only kills the weeds, excluding the crop. This fact makes GBH an extremely useful product for farmers. In addition, John Franz, the scientist who discovered glyphosate, has received several awards. This recognition results in an image of security and trust for the population (91).

In 2016, Bayer has bought Monsanto for US\$66 billion (92). Bayer is an internationally well-known company. Bayer's history further increases the confidence about their products on the general population.

Currently, the basic principle of glyphosate is that it is not absorbed by the root of the plant and therefore it will not reach that part that is considered to be food. However, other studies have shown that glyphosate is also used as a desiccant agent, being able to contaminate plant pollen and nectar of other plant species demonstrating its ability to reach the plant's vascularization (93). In addition, in the case of tolerant crops, as it is argued that it does not kill the crops, the herbicide will be applied several times, which makes it present in large amounts enhancing its potential harming effects.

In 2018, "Plataforma Transgénicos Fora" funded a study in Portugal to assess urine glyphosate levels in 26 volunteers. The results were compared with other studies in Europe and while, in the remaining 18 countries, the results pointed to 50% of the population being contaminated, in Portugal it was confirmed that all individuals in the study had the presence of glyphosate in their urine. The average contamination value of the samples was 0.35 ng/ml in

July and 0.31 ng/ml in October, which is about three times more of the legal limit in drinking water (94). However, all the studies carried out were not representative of the population since more individuals are needed in order to have more confident results.

## **10. Conclusion**

Despite being the most used herbicide in recent years, glyphosate has shown to be a matter of great concern, as we can find traces in soil, food and humans. Although it has been shown that mammals do not have shikimic acid pathway and therefore it does not affect humans, studies have provided contradictory information about this hypothesis. Glyphosate-based formulations affect many pathways and biological mechanisms, of which this work has only focus on a few. These mechanisms include oxidative stress, acetylcholine, manganese concentration, among others. Furthermore, several conditions have been associated with GBH, such as autism, parkinsonism and Alzheimer.

Overall, more studies are needed to determine the toxicity of glyphosate, its formulations and excipients. Nevertheless, due to trade secrets, companies have the right to avoid revealing the details of excipients and concentrations. On one side, such measures protect the brand, but on the other hand, may put human health at a higher risk.

It is also necessary to invest in more tests of chronic toxicity in order to increase reliable results and finally find more beneficial alternatives for human and animal health.

Unfortunately, it is easy for big companies to produce questionable substances and to bypass basic safety laws. However, this should not be allowed since we all deserve to live with facts and no one has the right to put someone's life at risk just for the money.

The pharmacist's role in this topic ranges from research to sharing information with the population in order to aware about the dangers of this herbicide.

In conclusion, this study highlights how exaggerated power of certain companies can be and also opens the door for further research in the field.



## Bibliography

1. Muñoz, JP., Bleak, TC., Calaf, GM. - Glyphosate and the key characteristics of an endocrine disruptor: A review. *Chemosphere*. (2021) 1;270:128619.
2. Vicini, JL., Reeves, WR., Swarthout, JT., Karberg, KA. - Glyphosate in livestock: feed residues and animal health. *J Anim Sci* (2019) 97(11):4509.
3. Samsel, A., Seneff, S. - Glyphosate, pathways to modern diseases III: Manganese, neurological diseases, and associated pathologies. (2015) 6(1).
4. National Institute of Environmental Health Sciences - Pesticides. cited 2023 Jan 3]. Available from: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pesticides/index.cfm>.
5. US EPA- Types of Pesticide Ingredients [cited 2023 Jan 3]. Available from: <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/types-pesticide-ingredients>
6. Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, CO., Kala, S., Kryeziu, TL., et al. - Pesticides, History, and Classification. *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*. (2020) 1;29–42.
7. Britannica TE of E. Herbicide - History, Types, Application, & Facts (2019) [cited 2023 Jan 3]. Available from: <https://www.britannica.com/science/herbicide>
8. Kraehmer, H., Laber, B., Rosinger, C., Schulz, A. - Focus on Weed Control: Herbicides as Weed Control Agents: State of the Art: I. Weed Control Research and Safener Technology: The Path to Modern Agriculture. *Plant Physiol* (2014) 166(3):1119.
9. Glyphosate Renewal Group- Uses [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://www.glyphosate.eu/useful-information/uses/>
10. Vallin, G. - Herbicidas: Syngenta Digital (2022) [cited 2023 Jan 3]. Available from: <https://blog.syngentadigital.ag/herbicidas/>
11. Wendels, S., Chavez, T., Bonnet, M., Salmeia, KA., Gaan, S. - Recent Developments in Organophosphorus Flame Retardants Containing P-C Bond and Their Applications. *Materials* (2017) 10(7):784.
12. B Coutinho, CF., Tanimoto, ST., Galli, A., Garbellini, GS., Takayama, M., do Amaral, RB., et al. - PESTICIDAS: MECANISMO DE AÇÃO, DEGRADAÇÃO E TOXIDEZ. (2005) 15:65–72.
13. Fukuto, TR. - Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. *Environ Health Perspect*. (1990) 87:245–54.

14. Mukherjee, S., Gupta, RD. - Organophosphorus Nerve Agents: Types, Toxicity, and Treatments. *J Toxicol* (2020) 3007984.
15. Muñoz, JP., Bleak, TC., Calaf, GM. - Glyphosate and the key characteristics of an endocrine disruptor: A review. *Chemosphere*. (2021) 270:128619.
16. PubChem – Glyphosate: C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P [cited 2023 Aug 6]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glyphosate#section=2D-Structure>
17. ASAE - Sabe o que é o Glifosato? [cited 2023 Aug 6]. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu->
18. Bai, SH., Ogbourne, SM. - Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. *Environmental Science and Pollution Research* [Internet]. (2016) 23(19):18988–9001.
19. Raquel, A., Marques, F. - Estudos de Degradação do Glifosato. (2008) [cited 2023 Feb 27] Available from: <https://ria.ua.pt/bitstream/10773/3076/1/2009000624.pdf>
20. Costas-Ferreira, C., Durán, R., Faro, LRF. - Toxic Effects of Glyphosate on the Nervous System: A Systematic Review (2022) 23(9).
21. Cai, W., Zhang, F., Zhong, L., Chen, D., Guo, H., Zhang, H., et al. - Correlation between CYP1A1 polymorphisms and susceptibility to glyphosate-induced reduction of serum cholinesterase: A case-control study of a Chinese population. *Pestic Biochem Physiol*. (2020) 162:23–8.
22. Krüger, M., Schledorn, P., Schrödl, W., Hoppe, HW., Lutz, W., Shehata, AA. - JEAT an open access journal Open Access Research Article Krüger. (2014) 4(2):210.
23. Pereira, Monica. – Glifosato: Sais e Surfactantes [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://monicapereira45.wixsite.com/glifosato/sais-e-surfactantes>
24. Roundup Glifosato -Produtos Roundup [cited 2023 Mar 21]. Available from: <http://www.roundup.com.br/produtos-da-familia-roundup#familia>
25. Milesi, MM., Lorenz, V., Durando, M., Rossetti, MF., Varayoud, J. - Glyphosate Herbicide: Reproductive Outcomes and Multigenerational Effects. (2021) [cited 2023 Mar 21] Available from: </pmc/articles/PMC8293380/>
26. Costas-Ferreira, C., Durán, R., Faro, LRF. - Toxic Effects of Glyphosate on the Nervous System: A Systematic Review. (2022) 23(9).

27. Singh, S., Kumar, V., Gill JPK, Datta S, Singh S, Dhaka V, et al. Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2020 Oct 2 [cited 2023 Jul 28];17(20):1–18. Available from: [/pmc/articles/PMC7602795/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37602795/)
28. Costas-Ferreira C, Durán R, Faro LRF. Toxic Effects of Glyphosate on the Nervous System: A Systematic Review. (2022) 23(9).
29. von Soosten, D., Meyer, U., Hüther, L., Dänicke, S., Lahrssen-Wiederholt, M., Schafft, H., et al. - Excretion pathways and ruminal disappearance of glyphosate and its degradation product aminomethylphosphonic acid in dairy cows. (2016) 99(7):5318–24.
30. Yong, C. et al.- Photodegradation of glyphosate in the ferrioxalate system. (2007) 148(1-2):360-5.
31. Pereira, Monica.- Glifosato: Toxicocinética [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://monicapereira45.wixsite.com/glifosato/toxicocinetica>
32. Sexton, K., Needham, LL., Pirkle, JL. - Human Biomonitoring of Environmental Chemicals Measuring chemicals in human tissues is the “gold standard” for assessing people’s exposure to pollution. (2004) [cited 2023 Jul 28]; Available from: [www.americanscientist.org](http://www.americanscientist.org)
33. Connolly, A., Jones, K., Basinas, I., Galea, KS., Kenny, L., McGowan, P., et al. - Exploring the half-life of glyphosate in human urine samples. *Int J Hyg Environ Health*. (2019) 222(2):205–10.
34. Hernández, AF., Lozano-Paniagua, D., González-Alzaga, B., Kavvalakis, MP., Tzatzarakis, MN., López-Flores, I., et al. - Biomonitoring of common organophosphate metabolites in hair and urine of children from an agricultural community. (2019) 131:104997.
35. Gilles, L., Govarts, E., Martin, LR., Andersson, AM., Appenzeller, BMR., Barbone, F., et al. - Harmonization of Human Biomonitoring Studies in Europe: Characteristics of the HBM4EU-Aligned Studies Participants. (2022) 19(11):678736.
36. Faniband, MH., Norén, E., Littorin, M., Lindh, CH. -Human experimental exposure to glyphosate and biomonitoring of young Swedish adults. (2021) 31:113657.
37. Nova, P., Calheiros, CSC., Silva, M. - Glyphosate in Portuguese Adults – A Pilot Study. (2020) 80:103462.
38. Naraine, AS., Aker, R., Sweeney, I., Kalvey, M., Surtel, A., Shanbhag, V., et al. - Roundup and glyphosate’s impact on GABA to elicit extended proconvulsant behavior in *Caenorhabditis elegans*. (2022) 12(1):13655.

39. Milesi, MM., Lorenz, V., Durando, M., Rossetti, MF., Varayoud, J. - Glyphosate Herbicide: Reproductive Outcomes and Multigenerational Effects. (2021) 12:672532
40. de Souza, JS., Laureano-Melo, R., Herai, RH., da Conceição, RR., Oliveira, KC., da Silva, IDCG., et al. - Maternal glyphosate-based herbicide exposure alters antioxidant-related genes in the brain and serum metabolites of male rat offspring. (2019) 74:121–31.
41. RTP: Glifosato- Monsanto condenada a pagar dois mil milhões de dólares a casal com cancro [Internet]. [cited 2023 Jul 28]. Available from: [https://www.rtp.pt/noticias/mundo/glifosato-monsanto-condenada-a-pagar-dois-mil-milhoes-de-dolares-a-casal-com-cancro\\_n1147361](https://www.rtp.pt/noticias/mundo/glifosato-monsanto-condenada-a-pagar-dois-mil-milhoes-de-dolares-a-casal-com-cancro_n1147361)
42. Ye, Z., Wu, F., Hennessy, DA. - Environmental and economic concerns surrounding restrictions on glyphosate use in corn. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2021) 118(18):e2017470118.
43. Roberts, DM., Buckley, NA., Mohamed, F., Eddleston, M., Goldstein, DA., Mehrsheikh, A., et al. - A prospective observational study of the clinical toxicology of glyphosate-containing herbicides in adults with acute self-poisoning. (2010) 48(2):129.
44. Roberts, DM., Buckley, NA., Mohamed, F., Eddleston, M., Goldstein, DA., Mehrsheikh, A., et al. - A prospective observational study of the clinical toxicology of glyphosate-containing herbicides in adults with acute self-poisoning. (2021) 48(2):129.
45. Zhang, L., Rana, I., Shaffer, RM., Taioli, E., Sheppard, L. - Exposure to Glyphosate-Based Herbicides and Risk for Non-Hodgkin Lymphoma: A Meta-Analysis and Supporting Evidence. (2019) 781:186.
46. Trasande, L., Aldana, SI., Trachtman, H., Kannan, K., Morrison, D., Christakis, DA., et al. - Glyphosate Exposures and Kidney Injury Biomarkers in Infants and Young Children. (2020) 256:113334.
47. Soukup, ST., Merz, B., Bub, A., Hoffmann, I., Watzl, B., Steinberg, P., et al. - Glyphosate and AMPA levels in human urine samples and their correlation with food consumption: results of the cross-sectional KarMeN study in Germany. (2020) 94(5):1575.
48. Parlamento Europeu - Parlamento Europeu defende proibição do glifosato a partir de dezembro de 2022. [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://www.europarl.europa.eu/news/pt/press-room/20171020IPR86572/parlamento-europeu-defende-proibicao-do-glifosato-a-partir-de-dezembro-de-2022>
49. Landrigan, PJ., Belpoggi, F. - The need for independent research on the health effects of glyphosate-based herbicides. (2018) 17(1):51.

50. Proibição do glifosato e proteção das pessoas e do ambiente contra pesticidas tóxicos [cited 2023 Jul 28]. Available from: [https://europa.eu/citizens-initiative/initiatives/details/2017/000002/ban-glyphosate-and-protect-people-and-environment-toxic-pesticides\\_pt](https://europa.eu/citizens-initiative/initiatives/details/2017/000002/ban-glyphosate-and-protect-people-and-environment-toxic-pesticides_pt)
51. DGAV – Glifosato: conclusões EFSA [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://www.dgav.pt/destaques/noticias/glifosato-conclusoes-efsa/>
52. EFSA: Glyphosate: no critical areas of concern: data gaps identified [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/news/glyphosate-no-critical-areas-concern-data-gaps-identified>
53. Cattani, D., de Liz Oliveira Cavalli. VL., Heinz Rieg, CE., Domingues, JT., Dal-Cim, T., Tasca, Cl., et al. - Mechanisms underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: Involvement of glutamate excitotoxicity. (2014) 320(1):34–45.
54. Binkowski de R, Luz Biomédicos A. ESTRESSE OXIDATIVO COMO FATOR IMPORTANTE NA FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER. [cited 2023 Jul 28]. Available from: <https://revistarebram.com/index.php/revistauniara/article/view/43>
55. Cattani, D., Cesconetto, PA., Tavares, MK., Parisotto, EB., De Oliveira, PA., Rieg, CEH., et al. - Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: Implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. (2017) 387:67–80.
56. Britannica: Acetylcholine: definition, Function, & Facts [cited 2023 Aug 13]. Available from: <https://www.britannica.com/science/acetylcholine>
57. Martins-Gomes, C., Coutinho, TE., Silva, TL., Andreani, T., Silva, AM. - Neurotoxicity Assessment of Four Different Pesticides Using In Vitro Enzymatic Inhibition Assays.]. (2022) 10(8):448.
58. Hampel, H., Mesulam, MM., Cuello, AC., Farlow, MR., Giacobini, E., Grossberg, GT., et al.- The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease. (2018) 141(7):1917.
59. Samanta, P., Pal, S., Mukherjee, AK., Ghosh, AR. - Biochemical effects of glyphosate based herbicide, Excel Mera 7I on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes. (2014) 107:120–5.

60. Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Crestani, M., Braga da Fonseca, M., Araújo Pedron, F. de Duarte, MF., *et al.* - Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). (2006) 65(2):237–41.
61. Aschner, M., Erikson, K. - Manganese. *Advances in Nutrition*. (2017) 8(3):520–1.
62. Krueger, M., Schrödl, W., Shehata, AA. - Field Investigations of Glyphosate in Urine of Danish Dairy Cows COVID-19 Pandemic View project New collection “Emerging and Re-emerging Infectious Diseases and Zoonoses” View project. (2013) [cited 2023 Jul 29]; Available from: <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0525.1000186>
63. Larsen, K., Najle, R., Lifschitz, A., Maté, ML., Lanusse, C., Virkel, GL. - Effects of sublethal exposure to a glyphosate-based herbicide formulation on metabolic activities of different xenobiotic-metabolizing enzymes in rats. (2014) 33(4):307–18
64. Volkmar, Fr., Nelson, Ds. - Seizure disorders in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* (1990) 29(1):127–9.
65. Winston, GP., Vos, SB., Burdett, JL., Cardoso, MJ., Ourselin, S., Duncan, JS. - Automated T2 relaxometry of the hippocampus for temporal lobe epilepsy. (2017) 58(9):1645.
66. Hurley, Ls., Woolley, De., Rosenthal, F., Timiras, PS. - Influence of manganese on susceptibility of rats to convulsions. (1963) 204:493–6.
67. Bruno-Bárcena, JM., Andrus, JM., Libby, SL., Klaenhammer, TR., Hassan, HM. - Expression of a Heterologous Manganese Superoxide Dismutase Gene in Intestinal Lactobacilli Provides Protection against Hydrogen Peroxide Toxicity. (2004) 70(8):4702.
68. De Keersmaecker, SCJ., Verhoeven, TLA., Desair, J., Marchal, K., Vanderleyden, J., Nagy, I. - Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid. (2006) 259(1):89–96.
69. Lin, Q. - Submerged fermentation of *Lactobacillus rhamnosus* YS9 for  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) production. *Brazilian Journal of Microbiology*. (2013) 44(1):183.
70. Schmitz, TW., Correia, MM., Ferreira, CS., Prescott, AP., Anderson, MC. - Hippocampal GABA enables inhibitory control over unwanted thoughts. (2017) 8(1):1–12.
71. Motiwala, Z., Aduri, NG., Shaye, H., Han, GW., Lam, JH., *et al.* - Structural basis of GABA reuptake inhibition. *Nature* (2022) 606(7915):820.
72. Stepulak, A., Rola, R., Polberg, K., Ikonomidou, C. - Glutamate and its receptors in cancer. *J Neural Transm* (2014) 121(8):933.

73. Pereira, Monica. – Glifosato: Neurotoxicidade [cited 2023 Jul 29]. Available from: <https://monicapereira45.wixsite.com/glifosato/neurotoxicidade>
74. Andersen, JV., Markussen, KH., Jakobsen, E., Schousboe, A., Waagepetersen, HS., Rosenberg, PA., *et al.* - Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration. *Neuropharmacology* (2021) 196:108719.
75. Görker, I., Tüzün, Ü. - Autistic-like findings associated with a urea cycle disorder in a 4-year-old girl. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* (2005) 30(2):133.
76. Lu, TX., Rothenberg, ME. - MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol* (2018) 141(4):1202.
77. Kandemir, H., Erdal, ME., Selek, S., Ay, Öl., Karababa, IF., Kandemir, SB., *et al.* - Evaluation of several micro RNA (miRNA) levels in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder. (2014) 580:158–62.
78. Ji, H., Xu, L., Wang, Z., Fan, X., Wu, L. - Differential microRNA expression in the prefrontal cortex of mouse offspring induced by glyphosate exposure during pregnancy and lactation. (2018) 15(3):2457.
79. Quigley, EMM. - Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases. (2017) 17(12):1–9.
80. Del Castillo, I., Neumann, AS., Lemos, FS., De Bastiani, MA., Oliveira, FL., Zimmer, ER., *et al.* - Lifelong Exposure to a Low-Dose of the Glyphosate-Based Herbicide RoundUp® Causes Intestinal Damage, Gut Dysbiosis, and Behavioral Changes in Mice. (2022) 23(10):5583.
81. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., *et al.* - Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. (2017) 8416763.
82. Phinney, D. – Parkinson´s vs Parkinsonism. (2020) [cited 2023 Aug 12] Available from: <https://davisphinneyfoundation.org/parkinsons-vs-parkinsonism/>. 2020.
83. Barbosa, ER., Leiros da Costa, MD., Bacheschi, LA., Scaff, M., Leite, CC. - Parkinsonism after glycine-derivate exposure. (2001) 16(3):565–8.
84. Wang, G., Fan, XN., Tan, YY., Cheng, Q., Chen, S. - Parkinsonism after chronic occupational exposure to glyphosate. (2011) 17(6):486–7.
85. Scheltens, P., De Strooper, B., Kivipelto, M., Holstege, H., Chételat, G., Teunissen, CE., *et al.*- Alzheimer’s disease HHS Public Access. (2021) 397:1577–90.
86. Christen, Y. - Oxidative stress and Alzheimer disease. (2000) 71(2):621S-629S.

87. Winstone, JK., Pathak, K V., Winslow, W., Piras, IS., White, J., Sharma, R., et al. - Glyphosate infiltrates the brain and increases pro-inflammatory cytokine TNF $\alpha$ : implications for neurodegenerative disorders. (2022) 19(1):193.
88. Xu, C., Wu, J., Wu, Y., Ren, Z., Yao, Y., Chen, G., et al. - TNF- $\alpha$ -dependent neuronal necroptosis regulated in Alzheimer's disease by coordination of RIPK1-p62 complex with autophagic UVRAG. (2021) 11(19):9452.
89. Galacho, C. - Boas Práticas de Laboratório: Como surgiram? O que são? Como se aplicam? (2013) [cited 2023 Aug 17]. Available from: [https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/110174/9866/1/CGalacho-BPL\\_SPQ\\_nv\\_final.pdf](https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/110174/9866/1/CGalacho-BPL_SPQ_nv_final.pdf)
90. Machado, MO. – Glifosato. A emergência de uma controvérsia científica global (2016). [cited 2023 Jul 29]. Available from: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/169662>
91. Inventors HOF Inductee- John Franz Invented Glyphosate Herbicide [cited 2023 Aug 17]. Available from: <https://www.invent.org/inductees/john-e-franz>
92. Laranjeiro, A. - Bayer compra Monsanto por quase 59 mil milhões no maior negócio do ano - Empresas - Jornal de Negócios (2016) [cited 2023 Jul 29]. Available from: [https://www.jornaldenegocios.pt/empresas/detalhe/bayer\\_compra\\_monsanto\\_por\\_quase\\_59\\_mil\\_milhoes\\_no\\_maior\\_negocio\\_do\\_ano](https://www.jornaldenegocios.pt/empresas/detalhe/bayer_compra_monsanto_por_quase_59_mil_milhoes_no_maior_negocio_do_ano)
93. Zioga, E., White, B., Stout, JC. - Glyphosate used as desiccant contaminates plant pollen and nectar of non-target plant species. (2022) 8(12):e12179.
94. Transgénicos Fora P. – Contaminação crónica por glifosato em Portugal (2019) [cited 2023 Jul 29]. Available from: <https://www.stopogm.net/contaminacao-cronica-por-glifosato-em-portugal/>
95. Jornal Oficial das Comunidades Europeias- Regulamento 178/2022. [cited 2023 Sep 1]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002R0178>