

EFEITOS DO PERCLORATO DE SÓDIO SOBRE O DESENVOLVIMENTO SEXUAL INICIAL DE RATOS MACHOS

Júlia R. A. Reis^{1*}, Felipe H. Teixeira¹, Kely C. N. Santos², Lavinia F. Lima³, Andréa L. Cunha-Laura⁴, Raquel F. Domeniconi⁵, Marciana Sanabria⁶

1. Estudante de Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS
2. Estudante de Mestrado em Biologia Animal da UFMS
3. Estudante de Graduação do Instituto de Biociências da UFMS
4. Professora Associada do Instituto de Biociências da UFMS
5. Professora Assistente Doutor do Instituto de Biociências da UNESP
6. Professora Adjunta do Instituto de Biociências da UFMS

Resumo

O perclorato de sódio (NaClO_4) é um contaminante ambiental, considerado um desregulador endócrino, encontrado na água potável e nos alimentos. O NaClO_4 pode ser transferido aos animais em desenvolvimento pela via placentária e pela lactação. Sabe-se que o perclorato é capaz de causar alterações nas funções da glândula tireoide e, nas funções do aparelho genital masculino de vertebrados. O objetivo do presente estudo é avaliar os efeitos tóxicos do NaClO_4 na diferenciação sexual da prole masculina. Para isso, ratas prenhes foram tratadas com baixas doses de NaClO_4 , via oral (gavage) do dia gestacional 12 (DG12) até o dia pós-natal 21 (DPN21 – final do período de lactação). O período foi escolhido com base na organogênese e na suscetibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-testículo a ações de desreguladores endócrinos. No DPN1, foi realizada a medição da distância anogenital (DAG) e no DPN13 a contagem de mamilos. As análises foram feitas pelo teste de variância (ANOVA) com “a posteriori” de Dunnett's, $p \leq 0,05$. Encontramos alterações significativas na DAG dos animais expostos a 10mg/kg quando comparado com o grupo controle e com o grupo exposto a 100mg/kg. Na contagem de mamilos não houve alterações significativas. Em suma, os resultados obtidos sugerem que a exposição ao NaClO_4 , nessas condições experimentais, provoca alterações na distância anogenital, que pode prejudicar a fisiologia normal do trato genital desses animais.

Autorização legal: Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMS (CEUA nº829/2016).

Palavras-chave: Desregulador endócrino; distância anogenital; reprodução

Apoio financeiro: CNPq

Introdução

O perclorato é um produto químico utilizado na fabricação de combustíveis para foguetes, fósforos, herbicidas e fertilizantes. Nas últimas décadas, esse produto tem causado grandes discussões acerca da sua toxicidade e dos níveis ambientais aceitáveis, que garantam a proteção da saúde humana e animal (Philip et al., 2006).

Considerado um contaminante ambiental onipresente, o perclorato tem como principais formas de exposição a água e os alimentos (Philip et al., 2006) mas, sabe-se que os organismos em desenvolvimento podem ser afetados pela via placentária e durante a lactação.

Estudos sobre a toxicidade do perclorato classificou-o como um desregulador endócrino capaz de alterar as funções da tireoide através da inibição competitiva da absorção de iodeto. Sobre a função reprodutiva masculina, o perclorato em diversos grupos de vertebrados, mostrou-se capaz de diminuir a motilidade espermática (Zhang et al., 2011), promover a feminilização na prole masculina (Sharma & Patiño, 2013) e hiperplasia testicular comprometendo a espermatogênese (Anderson et al., 2003).

Embasado nessas informações o presente estudo tem como objetivo analisar os efeitos tóxicos sobre a diferenciação sexual da prole masculina, cujas mães foram expostas ao perclorato de sódio durante a prenhez e a lactação.

Metodologia

Os ratos adultos (pesando aproximadamente 450g) e as fêmeas adultas (pesando aproximadamente 200g) da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da UFMS, foram mantidos em condições controladas de luminosidade (12 horas de luz/12 horas de escuro) e temperatura (média de 23°C). Acasalamentos foram realizados colocando duas fêmeas na caixa do macho, no período escuro do ciclo. O dia gestacional zero (DG0) foi definido pela presença de espermatozoides, através de esfregaço vaginal, na fase de estro ou proestro. As ratas prenhes foram colocadas em caixas individuais e pesadas em dias alternados para permitir o cálculo do volume de perclorato administrado no DG12 e para permitir a investigação de sinais clínicos de toxicidade. Após o nascimento, as ratas com ninhadas com número superior a oito filhotes foram reduzidas, selecionando o maior número de machos, e as ninhadas com número inferior a oito foram sacrificadas junto com as mães.

As ratas prenhes foram separadas em três grupos experimentais: controle (n=8); tratado com 10mg/Kg/dia de NaClO_4 (n=8) e o tratado com 100mg/Kg/dia de NaClO_4 (n=7). As doses dos tratamentos foram escolhidas

com base na LOAEL – 0,2mg/kg e com base em estudos prévios da literatura e na estimativa do consumo de perclorato através da ingestão de água potável. As fêmeas dos grupos tratados receberam uma única dose de NaClO₄ ao dia, via oral (gavage), diluído em água deionizada, do DG12 até o final da lactação (DG21). O grupo controle foi exposto as mesmas condições experimentais. O período de exposição foi escolhido para coincidir com o período de desenvolvimento do sistema genital da prole e pela susceptibilidade destes organismos à ação dos contaminantes químicos ambientais. No DPN1, todos os filhotes foram pesados, sexados e, com o auxílio de um paquímetro digital, realizada a DAG. Os resultados foram expressos como DAG/g^{1/3}. No DPN13 foi realizado a contagem do número de mamilos/aréolas que foi baseada na presença ou ausência de mamilos. Para comparação dos dados obtidos, foram utilizados os testes estatísticos de análise de variância - ANOVA, com teste “a posteriori” de Dunnett’s, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com teste “a posteriori” de Dunn, de acordo com a característica de cada variável. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$.

Resultados e Discussão

Os pesos corpóreos das fêmeas prenhes não diferiram estatisticamente entre os grupos controle e tratados com diferentes doses de perclorato de sódio, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Peso corpóreo final das ratas prenhes dos grupos controle e tratados com diferentes doses de perclorato.

Parâmetros	Controle	Tratado 10mg/kg	Tratado 100mg/kg
Peso corpóreo final (g)	236,85±4,19	224,88±4,97	230,67±9,87

Valores expressos em média±EPM. Teste análise de variância (ANOVA) com “a posteriori” de Tukey. $p > 0,05$.

A similaridade dos pesos corpóreos das ratas prenhes indica que o perclorato de sódio não provocou toxicidade materna, sugerindo que não houve comprometimento do estado geral de saúde destes animais, o que corrobora os resultados de York et al. (2003) feito com ratas Sprague-Dawley prenhes tratadas com doses de perclorato similares à utilizadas no presente trabalho.

A avaliação do parâmetro de desenvolvimento inicial, referente a DAG no DPN1, mostrou resultados significativos no tratado de 10mg/Kg/dia ($p=0,03$) quando comparado com o grupo controle, no entanto, o tratado de 100mg/kg não mostrou resultados estatisticamente significativos (Figura 1). A contagem de mamilos não mostrou resultados significativos.

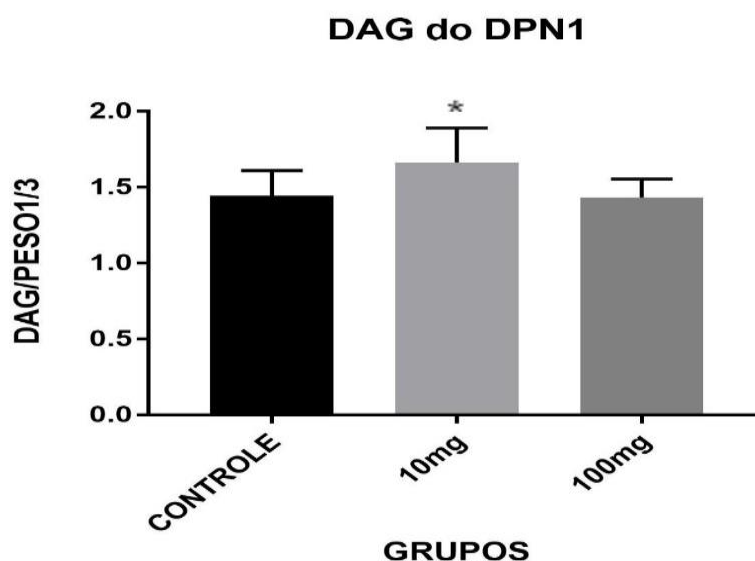


Figura 1: Distância anogenital no DPN1 da prole masculina dos grupos controle e tratados com diferentes doses de NaClO₄. Teste de análise de variância (ANOVA) com “a posteriori” de Dunnett’s. * $p \leq 0,05$

Segundo Pereira et al. (2003) o aumento da DAG pode ser influenciado por um desequilíbrio hipofisário na produção dos hormônios gonadotróficos (FSH e LH). A produção desses hormônios é fundamental para a regulação do desenvolvimento e da maturação sexual dos animais, de tal modo que, alterações na DAG podem

acarretar casos de criptorquidismo e hipospádia. O FSH e o LH quando desregulados também podem provocar alterações na produção dos espermatozoides e libido (Ewing et al., 1977).

Os trabalhos existentes na literatura sobre a exposição ao perclorato e ao desenvolvimento da reprodução masculina estão restritos a exposição gestacional. Portanto, a estratégia deste presente estudo foi incluir o desenvolvimento intrauterino e pós-natal. Assim, não foram possíveis comparações com outros estudos usando o mesmo protocolo de dosagem e tempo de exposição, bem como, com o parâmetro da DAG.

Conclusões

O NaClO₄ prejudica a diferenciação sexual e a fisiologia normal do trato genital masculino, em ratos machos expostos, durante a prenhez e a lactação, à menor dose. No entanto, é necessário ampliar os estudos sobre os demais parâmetros reprodutivos, nessas mesmas condições experimentais, para verificar se esses efeitos persistem durante a vida adulta e se pode vir a prejudicar a qualidade espermática e fertilidade masculina.

Referências bibliográficas

- ANDERSON E.M.; LAPWOOD K.R.; KNIGHT P.G. et al. The reproductive response of rams to thyroidectomy: mediation by impaired inhibin rather than a change in LH pulsatility. *Reproduction*, v.126, p.353-364, 2003.
- EWING L. L.; DESJARDINS C.; IRBY D. C. et al. Synergistic interaction of testosterone and oestradiol inhibits spermatogenesis in rats. *Nature*, v.269, p.409-411, 1977.
- PEREIRA O.C.M.; ARENA A.C.; YASUHARA F. et al. Effects of prenatal hydrocortisone acetate exposure on fertility and sexual behavior in male rats. *Regulat Toxicol Pharmacol*, v.38, p.36-42, 2003.
- PHILIP N. SMITH.; SCOTT A. SEVERT.; et al. Thyroid function and reproductive success in rodents exposed to perchlorate via food and water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, p1050-1059, 2006.
- SHARMA P.; PATINÕ R. Regulation of gonatal sex rations and pubertal development by the thyroid endocrine system in zebrafish (*Danio rerio*). *Gen Comp Endocrinol*, v.184, p.111-119, 2013.
- ZHANG R.; WU F.H.; ZHOU X. et al. The effects of ammonium perchlorate on thyroid function and testis in male rats. *J Ind Hygiene Occup Diseases*, v.29(8), p.579-582, 2011.
- YORK R.G.; FUNK K.A.; GIRARD M.F. et al. Oral (drinking water) Developmental Toxicity Study of Ammonium Perchlorate in Sprague-Dawley Rats. *Int J Toxicol* 22: 453-464, 2003.