

EFEITOS DO OCTIL-METOXICINAMATO (OMC) NA HISTOPATOLOGIA DO TESTÍCULO, RIM E FÍGADO DE RATOS WISTAR.

Autores: Vitor Kunes Lopes¹, Ana Rosa Crisci¹

Colaboradores: Bianca Zanchetta, Rafael Rian

¹ Centro Universitário Barão de Mauá

¹vitor.kunes@hotmail.com, ¹ana.crisci@baraodemaua.br

Resumo

O presente trabalho tem o objetivo de analisar os efeitos do OMC em ratos Wistar, visando as alterações nas funções reprodutivas, hepáticas e renais. Utilizou-se 2 grupos de animais, onde o grupo 1 recebeu óleo de milho (5ml/kg/dia) e o grupo 2 OMC: 500 mg/kg/dia (5ml/kg/dia) por via intragástrica a cada 24 horas. Conclui-se que o OMC nas doses e no tempo utilizados alteraram a arquitetura normal dos testículos, fígado e rins.

Introdução

Impactos Ecológicos do OMC

Em 2018, a Austrália foi o primeiro país a proibir vários tipos de protetores solares para proteger seu ambiente marinho de produtos químicos que estavam causando branqueamento dos recifes de corais e causando alterações na reprodução dos peixes locais (DUNLAP et al, 2013).

Os filtros solares são lipofílicos, atuando como bioacumuladores nos tecidos dos animais aquáticos (GARCIA et al, 2015), causando efeitos similares a outros compostos xenobióticos, como alterações comportamentais, reprodutivas e hormonais (CARNEVALI, O.; MARADONNA,F.; 2003).

Estudos demonstram que esses filtros aumentam significativamente a produção viral na água do mar, esse fenômeno ocasiona o branqueamento dos corais devido a indução do ciclo viral lítico, onde o vírus insere seu material genético nas células do hospedeiro, em zooxantelas infectadas que vivem em endossimbiose com esses corais, que sofrem o branqueamento pela falta de absorção de dióxido de carbono por parte das zooxantelas, empobrecendo a quantidade de nutrientes naquele ambiente. (DANOVARO et al., 2008).

Possíveis Efeitos do OMC em Mamíferos

Diversos estudos apontam a presença do OMC em fluídos biológicos como sangue, urina e leite materno, além de ser apontado como potencial

desregulador da tireoide e possível causador de vasorelaxamento nas artérias umbilicais (SARVEIYA et al., 2004).

O comprometimento da função tireoidiana leva a distúrbios neurológicos, problemas de desenvolvimento fetal, além do hipotireoidismo.

O hipotireoidismo é um distúrbio que prejudica a produção do hormônio pela glândula, desacelerando o metabolismo, gerando fadiga, sonolência, depressão e raciocínio lento (OLIVEIRA, V.; MALDONADO, R.R., 2014).

Quando o hipotireoidismo ocorre no período pré-natal, há um aumento no risco de aborto e parto prematuro, além de problemas de comportamento, como deficiências nas funções motoras, hiperatividade, problemas de interpretação e possível retardo mental (BENEVIDES et al., 2006).

Objetivos

Os objetivos do estudo em questão são investigar os efeitos adversos que o octil-metoxicinamato pode causar nas funções reprodutiva, hepática e renal em ratos Wistar, por meio de análise histopatológica dos testículos, rins e fígado, além de descrever alterações na massa corporal, níveis de consumo hídrico e alimentar e qualidade do esperma.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 10 ratos Wistar do sexo masculino, fornecidos pelo Biotério do Centro Universitário Barão de Mauá. Durante o período experimental os animais foram mantidos no biotério em condições controladas de temperatura 20 e 25°C e 45% a 55% de umidade relativa e em regime de luz de 12hs/12hs, água *ad-libitum* e ração balanceada. Depois de identificados, os grupos foram distribuídos em gaiolas individuais.

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos (controle e tratado) com 10 animais cada, onde conviveram dois animais por caixa. O grupo controle recebeu uma dose inicial de 0,6ml de óleo de milho, onde a dose foi ajustada diariamente de acordo com a variação de peso do animal, na qual a dose final foi de 0,71ml. O grupo tratado recebeu uma dose inicial de 0,6ml do OMC, sendo ajustada diariamente de acordo com o peso do animal, na qual a dose final foi de 0,63ml. As doses foram feitas uma vez por dia no período da tarde, por gavagem, durante 21 dias. Os animais foram pesados ao final de cada dia para que a dosagem fosse ajustada de acordo com o seu peso atual. Após o período de exposição às substâncias, os animais foram anestesiados com injeção de Tiopental sódico na dose de 120 mg/kg IP. Após o sacrifício foi feita a laparotomia para a coleta de testículos, rins, e fígado, onde os testículos foram pesados para posterior comparação. Além dos órgãos, foram coletadas amostras de esperma que foram diluídas em solução fisiológica de 1ml e coradas com eosina-nigrosina, para elaboração do espermograma

Análise dos Dados

Após a coleta dos órgãos foram realizadas suas devidas análises histopatológicas, onde foram comparadas as diferenças existentes entre o grupo controle e o grupo tratado para identificar possíveis alterações morfológicas ocasionadas pela ingestão do OMC. Além da análise comparativa dos órgãos, a variação do peso dos animais e de seus respectivos testículos foi equiparada e foram comparadas também as amostras de esperma de ambos os grupos, onde foram aferidas diferenças no vigor e na morfologia dos espermatozoides.

Resultados

Análise Histopatológica

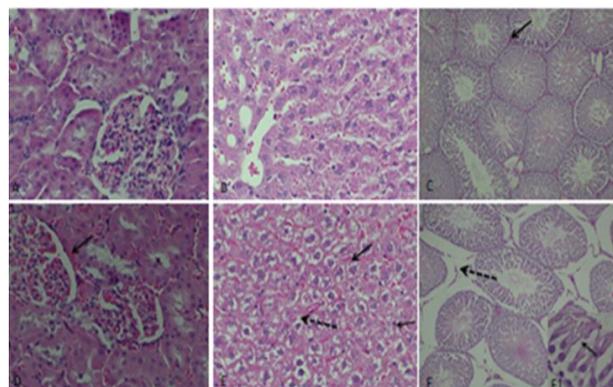
Na análise histopatológica do rim dos animais do grupo controle observou-se que o parênquima do córtex renal apresenta aspectos normais, com glomérulos renais e estruturas tubulares apresentando núcleos com cromatina frouxa (fig.1A). No grupo que ingeriu OMC o parênquima do córtex renal apresentou áreas hemorrágicas intra e extraglomerulares (seta preta).

Observou-se, na análise histopatológica do fígado de animal do grupo controle que o parênquima hepático estava normal, com aspectos lobulares preservados, cordões de hepatócitos com características também normais (Fig. 1B). No entanto, no grupo experimental, que ingeriu OMC, verificaram-se áreas pouco preservadas com evidente destrabeculação hepatocelular, discreto

infiltrado inflamatório com congestão vascular (seta preta), hepatócitos com degeneração hidrópica (seta pontilhada) e núcleos picnóticos (seta preta curta).

Nas secções testiculares dos ratos do grupo controle (fig. C) os tubos seminíferos apresentaram-se bem organizados. O epitélio seminífero mostrou-se íntegro, com células espermatogênicas em todas as etapas de desenvolvimento, o espaço intertubular apresentou-se normal, contendo vasos sanguíneos (seta preta). Nas secções testiculares dos ratos do grupo tratado com OMC (fig. 1 F), os tubos seminíferos apresentaram-se irregulares e com áreas com alterações nas células da linhagem espermatogênica (fig. F1, seta preta), e o tecido intertubular apresentou-se bem escasso (seta pontilhada).

Figura 1 - Fotomicrografias dos aspectos histopatológicos de rim, fígado e testículo (H.E.) (40X): Em A, B e C: Grupo Controle; Em D, E e F: grupo tratado com OMC



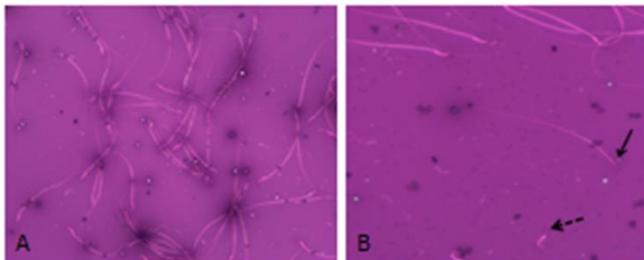
Fonte: o autor

Espermograma

Com base na análise comparativa do esperma dos dois grupos por meio do espermograma observou-se que a taxa de mobilidade (vigor) média dos espermatozoides dos grupos tratado e controle não foram significativamente diferentes ($p = 0,1449$).

Ao verificar a morfologia dos espermatozoides, notou-se que as taxas médias de normalidade dos espermatozoides dos grupos tratado e controle foram de fato significativamente diferentes ($p = 0,0428$), onde foi verificado um aumento na taxa de espermatozoides acéfalos e sem cauda (Fig. 2B) no grupo que recebeu o OMC. As taxas que indicavam espermatozoides sem gancho, com cauda enrolada, cauda com angulação acentuada, cauda com angulação atenuada, cauda sem angulação ou sem gancho e sem cauda permaneceram normais.

Figura 2 - Alterações morfológicas no esfregaço de espermatozoides. Em A: espermatozoides do grupo controle apresentaram de aspectos normais, Em B: espermatozoides de animais que ingeriram OMC: sem cauda (seta pontilhada) e acéfalo (seta preta).



Fonte: o autor

Varição Do Peso dos Animais

Ao analisar a variação de peso dos animais do grupo controle, concluiu-se que o ganho médio de peso dos animais desse grupo foi de 24,3g, onde esse ganho médio não foi estatisticamente significativo ($p = 0,0981$). Ao observar a variação de peso dos animais do grupo tratado, concluiu-se que o ganho médio de peso dos animais desse grupo foi de 27,9g, onde esse ganho médio de peso foi estatisticamente significativo ($p = 0,0131$).

Ao comparar os pesos finais do grupo controle e do grupo tratado, foi realizado que os pesos finais médios dos animais dos dois grupos não foram significativamente diferentes ($p = 0,9673$).

Varição do Peso dos Testículos

Ao se comparar os pesos dos testículos direito e esquerdo do grupo controle e do grupo tratado, concluiu-se que os pesos médios dos testículos dos animais dos dois grupos não foram significativamente diferentes ($p = 0,3343$).

Discussão

Atualmente há uma grande utilização de filtros solares possuindo diversos componentes desconhecidos pela opinião popular, e alguns deles podem ser nocivos tanto à saúde humana quanto para diversos outros organismos, (GARCIA, E.B. *et.al.* 2015). Sendo assim, é de suma importância a investigação sobre os efeitos que essas substâncias podem causar nesses organismos devido à grande presença dessas substâncias no cotidiano da população, para desvendar os fatores causais pela sua toxicidade e estabelecer medidas de intervenção, no âmbito da saúde pública, quanto ao uso desses compostos.

Na literatura os estudos sobre os efeitos da ação dos filtros solares em organismos vivos se distanciam muito em relação à idade dos ratos e as doses administradas, os filhotes em fase de amamentação representam o grupo potencialmente mais vulnerável aos mecanismos

da toxicidade da substância, e não há um acordo quanto a dose mínima necessária para o início de algum fenômeno tóxico no animal (GARCIA, E. B.2015).

Os estudos focados no octilmetoxi-cinamato são em sua maioria focados na ação as substâncias sobre o nível de tiroxina total, onde em grande parte dos casos houve uma queda nesse nível ocasionando casos de hipotireoidismo, evidenciado por uma grande diminuição no ganho de peso e problemas neurológicos posteriores, quando foram utilizados ratos no período lactacional.(OLIVEIRA, V.; MALDONADO, R.R., 2014).

O nosso estudo foi administrado em ratos fora da fase de amamentação, gerando menores efeitos sobre as funções hormonais nos quais causaram uma leve redução no ganho de peso nos animais tratados.

Nossos dados comprovam que houve mudanças na estrutura dos órgãos das funções reprodutoras, hepáticas e renais, além de uma queda na qualidade do sêmen, já evidenciadas por Axelstad, *et. al.* (2008) sobre os efeitos da exposição ao OMC nos períodos pré- e pós-natal, onde alterações nos tecidos dos órgãos foram comprovadas e a taxa de anomalias em espermatozoides sofreu um aumento.

Nossos resultados estão de acordo, porém em menor escala, com os demais estudos realizados sobre os efeitos dessa substância. A literatura se expande em diversas áreas, que vão desde alterações comportamentais ocasionadas pelo OMC até os seus efeitos nas artérias umbilicais humanas (FILIPE *et al.*, 2016), evidenciando uma necessidade de ampliar os estudos a respeito dessa substância para chegar a conclusões mais concordantes e abrangentes.

Conclusão

Concluiu-se que a exposição ao OMC durante o período juvenil embora não tenha causado mudanças no ganho de peso, de fato causou alterações nas funções reprodutivas, hepáticas e renais, onde foram evidenciadas alterações morfológicas nos rins, fígado e testículos dos animais analisados.

Além de mudança nas estruturas dos órgãos, foi evidenciado no espermograma que a substância causou um aumento na taxa de espermatozoides anormais e um aumento no número de anomalias na cabeça e na cauda.

As alterações que o octilmetoxi-cinamato apresentaram sugerem uma necessidade de maiores estudos sobre seus efeitos tendo em vista que essa e outras substâncias estão presentes no cotidiano de grande parte da população servindo de alerta para pessoas para que não se torne um problema de saúde pública

pelo uso descuidado de produtos que contenham grandes doses de OMC.

Referências

AXELSTAD, M., HANSEN, P. R., BOBERG, J., BONNICHSEN, M.; et al. Developmental neurotoxicity of propylthiouracil (PTU) in rats: relationship between transient hypothyroxinemia during development and long-lasting behavioural and functional changes.

Toxicology and Applied Pharmacology, [S.l.], v. 232, n.1, p.1-13, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18573268>>. Acesso em: 31 mai. 2019.

BENEVIDES, A.M.; et al. Perfil Epidemiológico de Portadores de Hipotireoidismo congênito. **Revista Paraense de Medicina**, Belém, v.20, n.3, p.23-26, 2006. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-59072006000300005>. Acesso em: 08 fev. 2020.

CARNEVALI, O.; MARADONNA, F. Exposure to xenobiotic compounds: looking for new biomarkers. **General and Comparative Endocrinology**, [S.l.], v.131, n.3, p. 203-208, 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016648003001059>> Acesso em: 11 jan. 2020.

DANOVARO, R.; et al. Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. **Environmental Health Perspectives**, [S.l.], v.116, n.4, p.441-447, 2008. Disponível em: <<https://ehp.niehs.nih.gov/doi/full/10.1289/ehp.10966>> Acesso em: 11 jan. 2020.

DUNLAP, W.C.; SHICK, J.M.; YAMAMOTO, Y. Sunscreens, oxidative stress and antioxidant functions in marine organisms of the Great Barrier Reef. **Redox Report**, [S.l.], v.4, n.6, p. 301-306, 1999. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/135100099101535142>> Acesso em: 09 fev. 2020.

FILIPPE, J. F. **Estudo do efeito do Octilmetoxicinamato (OMC) em artérias umbilicais humanas**. 2016. 26 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2016. Disponível em: <https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/5364/1/4844_9632.pdf> Acesso em: 15 jan. 2020.

GARCIA, E. B. **Efeito da desregulação tireoideana induzida por octil metoxi cinamato sobre parâmetros cognitivos em ratos**. 2015. 77 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9656>>. Acesso em: 16 mai. 2019.

GARGIA, E. B. et al. Contaminação ambiental e da cadeia alimentar com filtros solares: um potencial risco à saúde humana. **Revista Analytica**, São Paulo, v.13, n.77, p.45-54, 2015. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/11841>>. Acesso em: 16 mai. 2019.

OLIVEIRA, V.; MALDONADO, R.R. Hipotireoidismo e Hipertireoidismo – Uma breve revisão sobre as disfunções tireoidianas. **Interciência & Sociedade**, São Paulo, v.3, n.2, p.36-45. 2014. Disponível em: <http://fmpfm.edu.br/intercienciaesociedade/colecao/online/v3_n2/4_hipotireoidismo.pdf> Acesso em: 10 jan. 2020.

SARVEIYA, V.; RISCK, S.; BENSON, H.A. Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents: application to in vivo assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers. **Journal of Chromatography B**, [S.l.], v.803, n.3, p.255-231, 2004. Disponível em: <<http://www.bio.umass.edu/biology/zoeller/pdf/neurotox.pdf>> Acesso em: 08 fev. 2020.

ZOELLER, T. R.; CROFTON, K. M. Thyroid hormone action in fetal brain development and potential for disruption by environmental chemicals. **NeuroToxicology**, [S.l.], v.21, n.6, p. 935-945, 2000. Disponível em: <<http://www.bio.umass.edu/biology/zoeller/pdf/neurotox.pdf>> Acesso em: 10 jan. 2020.