

AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DE GLICOGÊNIO DECIDUAL NO ÚTERO DE RATAS EXPOSTAS A HERBICIDA E TRATADAS COM MELATONINA

Lécio Leone de Almeida¹, Giovanna da Silva Girão Nobre Pitombeira²,
Álvaro Aguiar Coelho Teixeira³ Valéria Wanderley Teixeira⁴

Resumo: A exposição ao herbicida Roundup[®] pode resultar em intoxicações agudas e, às vezes crônicas, podendo atuar ainda como agente cancerígeno, disruptores endócrinos, levando a distúrbios reprodutivos. Objetivou-se quantificar o glicogênio decidual uterino de ratas prenhes expostas à intoxicação aguda por herbicida Roundup[®] e sua prevenção pela melatonina. Foram utilizadas 18 ratas Wistar, divididas em 3 grupos: controle; GII (ratas expostas a dose subletal de Roundup[®] e GIII (ratas expostas ao herbicida e tratadas com Mel). O herbicida foi administrado por gavagem e a melatonina pela via intraperitoneal até o 7º dia de prenhez. Em seguida, as ratas foram anestesiadas, eutanaziadas e os úteros coletado e submetido ao processamento histológico de rotina. Os resultados revelaram prevenção do esgotamento de glicogênio nas células deciduais contra a toxicidade por Roundup[®]. Concluímos que a melatonina promoveu atividade protetora contra a depleção de glicogênio durante o processo de decidualização.

Palavras-chave: Melatonina. Sítio de implantação. Herbicida.

1. Introdução

Exposição a herbicidas representa um grave problema de saúde pública nos países em desenvolvimento, especialmente àqueles com economias baseadas no agronegócio (FORGET, 1989).

Entre algumas das consequências dessa exposição observadas em animais e no homem estão o desequilíbrio endócrino associado ao aparecimento de cânceres, infertilidade, má-formações congênitas no trato genital e modificações na qualidade do sêmen (KOIFMAN; HATAGIMA, 2003), injúrias no desenvolvimento embrionário como perda de peso corporal e na maturação de sistemas fisiológicos, deficiências anatômicas (DENT, 2007). Assim, alterações durante o desenvolvimento embrionário podem gerar alterações importantes, manifestando-se em fases tardias do ciclo de vida ou mesmo serem translocadas às gerações posteriores (REIS FILHO et al., 2007).

O maior interesse no tratamento das intoxicações por herbicidas, tem se concentrado em medidas que impeçam ou minimizem as lesões celulares provocadas nos diversos sistemas biológicos (MELCHIORRI et al., 1995; XU et al., 2007) inclusive no sistema reprodutor durante o desenvolvimento embrionário (HAUSBURG et al., 2005). Nesse sentido, tem-se enfatizado a utilização de várias substâncias, entre elas as com ação antioxidante, como a melatonina (Mel) (REITER et al., 2016).

1 Universidade Regional do Cariri, email: lecioalmeida44@gmail.com

2 Universidade Regional do Cariri, email: giovannapitombeira@gmail.com

3 Universidade Federal Rural do Pernambuco, email: alvaro.teixeira@ufrpe.br

4 Universidade Federal Rural do Pernambuco, email: valeria@hotmail.com

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

Dessa forma, analisou-se a histoquímica dos sítios de implantação para quantificar o glicogênio decidual uterino de ratas prenhes expostas à intoxicação aguda por herbicida Roundup® e sua prevenção pela Mel.

2. Objetivo

Quantificar o glicogênio decidual uterino de ratas prenhes expostas à intoxicação aguda por herbicida Roundup®.

3. Metodologia

Foram utilizadas 18 ratas albinas da linhagem Wistar, com 90 dias de idade, virgens, púberes e pesando entre 200 ± 20 g. Estas foram acondicionadas em gaiolas com regime de alimentação (ração Purina-Labina) e água “*ad libitum*” em ambiente controlado. Após 10 dias de aclimatação, as fêmeas foram submetidas a exames colpocitológicos, separadas aleatoriamente e acasaladas para a formação de três grupos experimentais ($n = 6$ cada). Em seguida foram submetidas a exposição aos herbicidas e tratamento com melatonina.

A exposição ao herbicida a base de glifosato (Roundup®) e tratamento com Mel aconteceu do 1º ao 7º dia de prenhez, conforme segmento II recomendados pela EPA (1996). Assim, o grupo 1 – controle (tratamento com salina por via intraperitoneal); Grupo 2 – ratas expostas as doses subletais e Grupo 3 – ratas expostas ao herbicida e tratadas com Mel ao mesmo tempo.

Para o tratamento com Mel foi administrada por via intraperitoneal entre as 17 e 18 horas da tarde. A dose de Mel administrada foi de 10 mg/Kg de peso corporal (MELCHIORRI et al., 1995).

Para a exposição aos herbicidas foram utilizadas diluições do produto comercial na dose de 500 mg/kg de glifosato-Roundup® de peso corporal dosagem definida a partir da NOEL-dose (1000mg/kg) (WILLIAMS et al., 2000).

A exposição ao herbicida foi realizada entre 9 e 10 horas da manhã. Para análise quantitativa de glicogênio decidual, as fêmeas foram anestesiadas através da administração de hidrocloridrato de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intraperitoneal e submetidas à eutanásia, quando estas já estiverem sob anestesia ou em estado de coma, com 40 mg/kg de tiopental sódico por via intraperitoneal.

Assim, ao 7º dia de prenhez os úteros foram coletados por laparotomia, preservados em formaldeído a 10% tamponado por 24 horas. Logo após, foram lavadas em solução tampão PBS, desidratadas em álcool em série crescente de concentração e incluídas em glicol metacrilato historesina (Historesin Leica®). Os cortes de 4 µm foram submetidos à técnica do PAS (ácido periódico de Schiff) (ALMEIDA et al., 2017).

Para análise citoquímica, dez imagens/grupo dos sítios de implantação corados com PAS foram transferidas para o software de análise de imagem (ImageJ 1.49t, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) para o armazenamento dos dados sobre a estimativa da concentração de glicogênio nas células deciduais.

Todos os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média e analisadas pelo software SAS® for Windows versão 9.0. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo previamente testados para normalidade pelo Teste de Shapiro-Wilk. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4. Resultados

Os resultados do presente estudo revelaram redução na concentração de glicogênio (Figura 1) nas células decidual do útero de ratas do grupo exposto ao herbicida Roundup®, porém no grupo tratado com Mel observamos valores semelhantes aos do grupo controle (Figura 2).

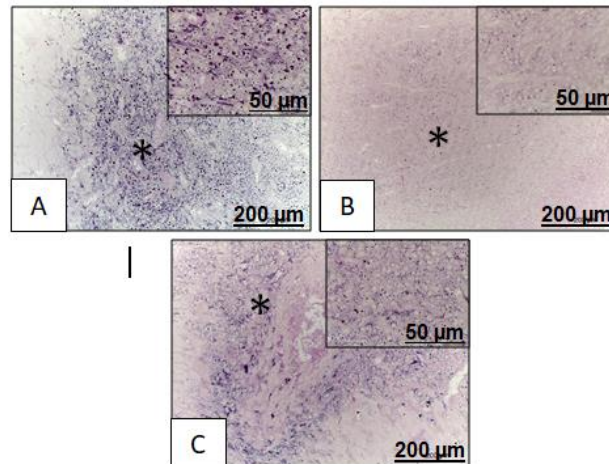


Figura 1. Avaliação citoquímica de células natural killer uterinas de sítios de implantação do blastocisto de ratas dos grupos experimentais. (A) G1 - controle, observar marcação forte; (B) G2 – Roundup® marcação fraca; (C) G3 Roundup®+Mel marcação semelhante ao controle.

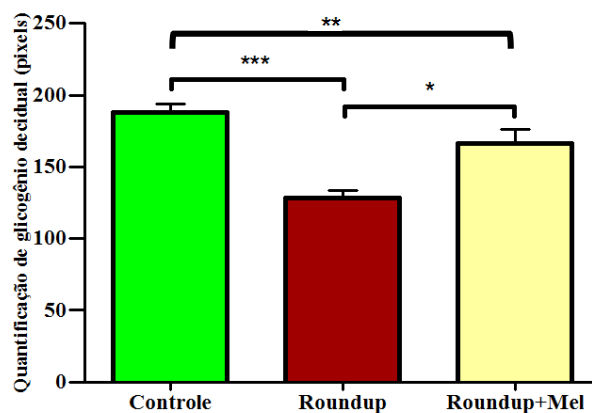


Figura 2. Quantitativa de glicogênio decidual uterino de ratas dos grupos experimentais. Notar que houve uma redução na concentração de glicogênio decidual do grupo Roundup quando comparado ao controle (***) $p > 0,001$), porém no grupo Roundup+Mel os valores foram semelhantes aos do grupo controle (** $p > 0,01$). Entre os grupos Roundup e Roundup+Mel também houve diferença (* $p > 0,05$).

A depleção de glicogênio pode levar a preparação inadequada de endométrio à implantação, e, portanto, pode ser uma das causas da infertilidade (GUPTA; MATHUR; GUPTA, 2013). Ingaramo et al. (2016) observaram que alterações no processo de decidualização podem ser o mecanismo de perda de embriões pós-implantação induzida pelo herbicida a base de glifosato (Roundup®). O que poderia explicar a redução na concentração de glicogênio decidual observados em nossos resultados.

A transformação do endométrio em decídua ocorre imediatamente após a implantação do blastocisto. Durante a decidualização, células estromais diferenciam-se distintamente, tornando-se grandes e binucleadas. Além disso,

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

reservas de glicogênio e lipídios aumentam progressivamente no citoplasma dessas células (GÜRSOY; BULUT; BASIMOGLU-KOCA, 1998) constituindo fontes de alimentação para o embrião em crescimento até a formação da placenta (CROSS; MICKELSON, 2006).

Assim, a melatonina pode estar envolvida como agente antioxidante no processo de implantação embrionária, na decidualização, bem como na remodelação da matriz extracelular uterino em ratas prenhes (ZHAO; PANG; POON, 2002). O que explicaria prevenção do esgotamento de glicogênio decidual observados em nossos resultados.

5. Conclusão

Assim, com base nos resultados, conclui-se que o tratamento com Mel promove prevenção do esgotamento de glicogênio nas células deciduais contra a toxicidade induzida pelo herbicida Roundup®.

6. Referências

ALMEIDA, L. L. TEIXEIRA, A. A. C.; SOARES, A. F.; CUNHA, F. M.; SILVA JÚNIOR, V. A.; VIEIRA FILHO, L. D. Effects of melatonin in rats in the initial third stage of pregnancy exposed to sub-lethal doses of herbicides. **Acta Histochemica**. In Press. 2017.

CROSS, J.C.; MICKELSON, L. Nutritional Influences on Implantation and Placental Development. **Nutrition Reviews**, v. 64, n. 5, p. 12-18, 2006.

DENT, M. P. Strengths and limitations of using repeat dose toxicity studies to predict effects on fertility. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 48, n. 3, p. 241-258, 2007.

EPA - U.S. Environmental Protection Agency, 1996. Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment. Report no. EPA/630/R-96/009. Disponível em: <http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/REPRO51.PDF/> Acessado em: 15 mar. 2017.

FORGET, G. Pesticides: necessary but danferous poisons. **IDRC Reports**, v. 18, p. 4-5, 1989.

GUPTA, A.; MATHUR, S. K.; GUPTA, A. Co-Orelation of Histological Dating and Glycogen Content by Histochemical Stain during Various Phases of Menstrual Cycle in Primary Infertility. **Open Journal of Pathology**, v. 3, n. 2, p. 65-68, 2013.

GÜRSOY, E.; BULUT, H. E.; BASIMOGLU-KOCA, Y. Blastocyst Implantation in Rats: A Morphological Approach. **Okajimas Folia Anatomica Japonica**, 74, n. 6, p. 293-316, 1998.

HAUSBURG, M. A.; DEKREY, G. K.; SALMEN, J. J.; PALIC, M. R.; GARDINER, C. S. Effects of paraquat on development of preimplantation embryos in vivo and in vitro. **Reproductive Toxicology**, v. 20, n. 2, p. 239-246, 2005.

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

INGARAMO, P. I.; VARAYOUD, J.; MILESI, M. M.; SCHIMPF, M. G.; MUÑOZ-DE-TORO, M.; LUQUE, E. H. Effects of neonatal exposure to a glyphosate-based herbicide on female rat reproduction. **Reproduction**, v. 152, n. 5, p. 403-415, 2016.

KOIFMAN, S.; HATAGIMA, A. Disruptores endócrinos no ambiente: efeitos biológicos potenciais. **Revista Brasileira de Mastologia**, v. 13, n. 1, p. 9-11, 2003.

MELCHIORRI, D.; REITER, R. J.; ATTIA, A. M.; HARA, M.; BURGOS, A.; NISTICO, G. Potent protective effect of melatonin on *in vitro* paraquat-induced oxidative damage in rats. **Life Sciences**, v. 56, n. 2, p. 83-89, 1995.

REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 3, p. 283-288, 2007.

REITER, R. J.; MAYO, J. C.; TA, D-X.; SAINZ, R. M.; ALATORRE-JIMENEZ, M.; QIN, L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. **Journal of Pineal Research**, v. 61, p. 253-278, 2016.

XU, J.; SUN, S.; WEI, W.; FU, J.; QI, W.; MANCHESTER, L. C.; TAN, D. X.; REITER, R. J. Melatonin reduces mortality and oxidatively mediated hepatic and renal damage due to diquat treatment. **Journal Pineal Research**, v. 42, n. 2, p. 166-171, 2007.

ZHAO, H.; PANG, S. F.; POON, A. M. S. Variations of mt1 melatonin receptor density in the rat uterus during decidualization, the estrous cycle and in response to exogenous steroid treatment. **Journal Pineal Research**, v. 33, n. 3, p. 140-145, 2002.