

## **EFEITOS DA EXPOSIÇÃO MATERNA À POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA NOS MARCADORES PRÓ-INFLAMATÓRIOS DA PROLE<sup>1</sup>**

**Bethina Barz Basso<sup>2</sup>, Samara Cristine Knebel<sup>3</sup>, Shana Segatto Vendruscolo<sup>4</sup>, Pauline  
Brendler Goettems Fiorin<sup>5</sup>, Matias Nunes Frizzo<sup>6</sup>**

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI)

<sup>2</sup> Estudante do curso de Biomedicina da UNIJUI. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, financiado pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - PIBIC/UNIJUI.

<sup>3</sup> Estudante do curso de Biomedicina da UNIJUI.

<sup>4</sup> Mestre em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUI/URI) E-mail: shana.vendruscolo@unijui.edu.br

<sup>5</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUI/URI) E-mail: pauline.goettems@unijui.edu.br

<sup>6</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUI/URI) E-mail: matias.frizzo@unijui.edu.br

### **INTRODUÇÃO**

Dentre os constituintes da poluição atmosférica, o material particulado fino (MP2,5) se destaca pela sua concentração e químicos, ozônio, monóxido de carbono, óxido de nitrogênio e enxofre, que produzem inúmeros efeitos nocivos à saúde, mesmo em concentrações abaixo dos padrões recomendados pela OMS (Curtis et al., 2006). Dentre estes, a poluição do ar atmosférico por MP2,5 em áreas urbanas tem sido um importante enfoque como problema de saúde pública, sendo responsável por cerca de 1% da mortalidade por infecções respiratórias agudas em crianças menores de 5 anos (Cohen et al., 2005).

Estudos demonstram que as internações hospitalares de crianças e adolescentes em decorrência de patologias respiratórias aumentam com a poluição atmosférica (Braga et al., 2001), existindo uma relação significativa entre a maior concentração atmosférica de MP2,5 e o aumento no número de atendimentos hospitalares em crianças (Nascimento et al., 2017). Em sentido semelhante, Tang et al. (2017), avaliaram a prole de ratas expostas ao MP2.5 através de micro-CT, revelando que a exposição ao poluente durante a gravidez resulta no desenvolvimento de inflamação pulmonar na prole. Já o estudo de Li et al. (2020) revela que o MP2,5 leva a inflamação das vias aéreas através da infiltração de leucócitos e aumento da expressão de citocinas inflamatórias. Neste sentido, associado aos índices crescentes de poluição atmosférica e de doenças respiratórias na infância, estudos experimentais têm sido realizados para compreender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos, assim como alterações em parâmetros hematológicos.



Dessa forma, o objetivo deste estudo é analisar a relação da exposição materna à poluição atmosférica por material particulado com a biometria e biomarcadores imuno inflamatórios, em especial os parâmetros leucocitários, na prole de ratas.

## **METODOLOGIA**

Esse estudo foi realizado na Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul/UNIJUÍ, no Laboratório de Ensaio Biológicos - LeBio, Sala de experimentação do Biotério e Laboratório de Análises Clínicas (UNILAB) da UNIJUÍ, ao decorrer de 63 dias, em duas etapas, sendo que a primeira etapa teve a duração 21 dias, correspondendo ao período gestacional das ratas, e a segunda etapa, de 42 dias, correspondente ao período de amamentação da prole e desenvolvimento correspondente ao primeiro ano de vida do humano (Andreollo et al., 2012; Sengupta, 2013), na fase de amamentação.

Durante a primeira etapa desse estudo, os animais (5 ratos machos Wistar e 12 ratas fêmeas Wistar) que foram inicialmente colocados em 8 caixas específicas para roedores, em cada caixa 2 fêmeas e 1 macho, durante 5 dias para acasalamento, ao final deste período foram avaliados os sinais de gestação. As ratas gestantes (n=12) decorreram aleatoriamente em dois grupos: controle (n=6) e poluição (n=6). Grupo Poluição: Fêmeas gestantes (n=6) receberam instilação intranasal do ROFA na concentração de 250µg/50µL, cinco dias por semana, ao longo de 21 dias, período da gestação. Grupo Controle: Fêmeas gestantes (n=6) receberam instilação intranasal de soro fisiológico 0,9%, cinco dias por semana, ao longo de 21 dias. Ao final do período de amamentação (63º dia de experimento) as mães e os filhotes foram eutanasiados para respectivas análises hematológicas.

Para determinação de parâmetros hematológicos, o sangue foi acondicionado em tubo com anticoagulante (EDTA) (5 µL de EDTA, para cada 500 µL de sangue). Para a determinação automatizada foi utilizado o analisador hematológico Micros 60® (Horiba), seguindo as recomendações do fabricante. Ocorreu semanalmente a partir do 21º dia o acompanhamento do peso semanal em gramas da prole.

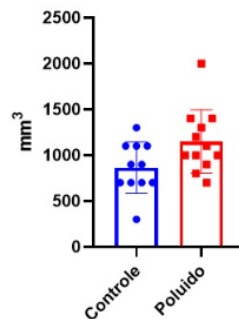
A análise estatística foi realizada por Teste T de student para variáveis analisadas ao término do estudo e Anova de duas vias para as variáveis analisadas ao longo do tempo,. Também foram realizadas análises de associação e de correlação de Pearson, no programa estatístico GraphPad Prism 7.0. Para nível de significância estatística foi considerado  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em relação aos parâmetros hematológicos, observamos que os animais da prole do grupo poluído apresentaram uma contagem global de leucócitos maior (P value 0,0424) que os animais do grupo controle, os quais estão expressos na Figura 1.

O aumento da leucometria no grupo poluído identifica um estado pró-inflamatório, pela maior produção e consumo de leucócitos no organismo. Já existem estudos onde apresentam resultados com quadro inflamatório dado pelos leucócitos totais, por conta das partículas finas e ultrafinas liberarem citocinas inflamatórias (de Brito, 2014).

### Leucócitos Totais

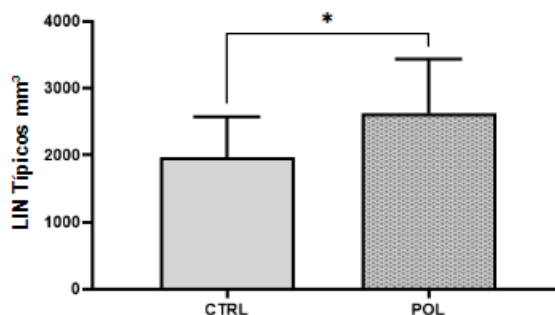


**Figura 1.** Contagem de Leucócitos Totais no grupo controle (n=11) grupo poluído (n=12). Foi realizado o teste de ANOVA de uma, seguido do pós teste de Tukey, com resultado de P = 0,0424. Fonte: Próprios autores.

Na análise da contagem global de linfócitos (figura 2) identificamos que a prole poluída (n=12) apresentou uma maior contagem de linfócitos (P = 0,0122) do que a prole controle (n=11). Já as contagens absolutas de neutrófilos bastonetes, neutrófilos segmentados e monócitos não apresentaram diferença entre a prole controle e a prole poluída.

A diferença observada no quadro clínico da leucometria, não se deve às contagens de neutrófilos e monócitos apresentados. Em outros estudos, já se deve a comparação destes parâmetros, por observarem a produção de citocinas inflamatórias como a interleucina-8 (IL-8), mediador dos neutrófilos, além de estimularem a medula óssea a amplificar a resposta monocitária (de Brito, 2014).

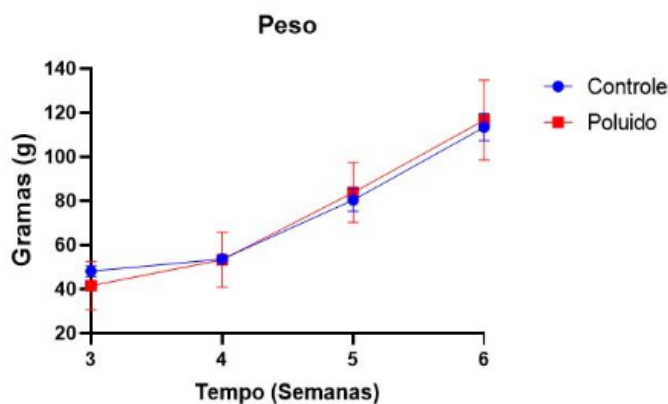
### Linfócitos Típicos



**Figura 2.** Contagem de Linfócitos Típicos no grupo controle (n=11) grupo poluído (n=12). Foi realizado Test T não pareado, com resultado de  $P = 0,0122$ . Fonte: Próprios autores.

Já em relação ao peso semanal (figura 3), como esperado, os animais apresentaram ganho de peso semanal em função de estarem em crescimento, no entanto não encontramos diferenças no ganho de peso dos animais da prole poluída (n=12) e da prole controle (n=11).

A exposição ao ROFA não alterou o ganho de peso dos animais no experimento, porém, em um estudo apresentado por Fiorin (2018), quando gerado um aumento de peso corporal alterado, se deve à condição pró-inflamatória.



**Figura 3.** Peso Semanal no grupo controle (n=11) grupo poluído (n=12). Foi realizado o teste de ANOVA de duas vias, seguido do pós teste de Tukey, no qual o fator de interação entre tempo e intervenção foi de  $P = 0,3515$ , fator tempo  $P = 0,001$  e fator intervenção (poluído)  $P = 0,966$ . Fonte: Próprios autores.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Identificamos um efeito pró-inflamatório da exposição ao ROFA evidenciado pelo aumento na leucometria às custas dos linfócitos, nos animais do grupo exposto à poluição. No entanto, não identificamos alterações no ganho de peso entre os animais do grupo controle e poluído.

**Palavras-chave:** ROFA; Gestação; Biometria, Leucócitos.

### AGRADECIMENTOS

Agradeço aos membros do Grupo de Pesquisa em Fisiologia pelos ensinamentos e supervisão, em especial, ao Doutor Matias Nunes Frizzo, pela orientação. Agradeço também ao programa de bolsas PIBIC/UNIJUÍ pela concessão da bolsa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andreollo, Nelson Adami et al. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo), [s. l.], v. 25, n. 1, p. 49?51, 2012.
- De Brito, Jôse Mára et al. Avaliação da exposição aguda às partículas urbanas concentradas e da exaustão de motores diesel e biodiesel sobre o perfil inflamatório pulmonar e sistêmico de camundongos. 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo (USP). Faculdade de Medicina (FM/SBD).
- Epa. What is Particulate Matter?. [S. l.], 2021. Disponível em: <https://www3.epa.gov/region1/eco/uep/particulatematter.html>.
- Goettems-Fiorin, Pauline Brendler et al. Fine particulate matter potentiates type 2 diabetes development in high-fat diet-treated mice: stress response and extracellular to intracellular HSP70 ratio analysis. Journal of Physiology and Biochemistry, [s. l.], v. 72, n. 4, p. 643?656, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13105-016-0503-7>
- Fiorin, Pauline Brendler Goettems. Efeitos da exposição crônica ao ROFA em parâmetros metabólicos, oxidativos e inflamatórios de ratas obesas ovariectomizadas. 2019.
- Lin, Lisen et al. Effect of particulate matter exposure on the prevalence of allergic rhinitis in children: A systematic review and meta-analysis. Chemosphere, [s. l.], v. 268, n. xxxx, p. 128841, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128841>
- Sengupta, Pallav. The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human?s. INTERNATIONAL JOURNAL OF PREVENTIVE MEDICINE, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 625?630, 2013.
- Tang, Wenting et al. Maternal exposure to fine particulate air pollution induces epithelial-to-mesenchymal transition resulting in postnatal pulmonary dysfunction mediated by transforming growth factor-?/Smad3 signaling. Toxicology Letters, [s. l.], v. 267, p. 11?20, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.12.016>