



**Evento:** XXXIV Seminário de Iniciação Científica

## **EFEITOS DA EXPOSIÇÃO MATERNA À EXPOSIÇÃO ATMOSFÉRICA NOS BIOMARCADORES RENAI E NO PESO RELATIVO DOS RINS<sup>1</sup>**

**Arthur Fleck Zamberlan<sup>2</sup>, Nadine Paré<sup>3</sup>, Fernanda Daltrozo Ernandes<sup>4</sup>, Brenda W. de Carvalho<sup>5</sup>, Daniel R. Queruz<sup>6</sup>, Vitor Antunes de Oliveira<sup>7</sup>, Pauline B. G. Fiorin<sup>7</sup>, Matias Nunes Frizzo<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Projeto de pesquisa desenvolvido na Unijuí; com financiamento da agência FAPERGS.

<sup>2</sup> Estudante do curso Medicina, bolsista PROBIC/PROBITI-FAPERGS.

<sup>3</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS - UNIJUÍ.

<sup>4</sup> Egressa do curso de Biomedicina.

<sup>5</sup> Estudante do curso de Medicina, bolsista no projeto de pesquisa.

<sup>6</sup> Estudante do curso de Medicina, bolsista voluntária no projeto de pesquisa..

<sup>7</sup> Professor(a) pesquisador(a) - Projeto Efeitos da Exposição Materna à Poluição Atmosférica Nos Marcadores Pró-Inflamatórios e de Estresse Oxidativo da Prole. Professor(a) do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS - UNIJUÍ.

### **INTRODUÇÃO**

A poluição atmosférica pode ser definida como a presença de substâncias estranhas na composição do ar aspirado, podendo ser resultante de ação humana ou de processos naturais, em concentração suficiente para interferir no funcionamento fisiológico dos seres vivos (CANÇADO et al., 2006). Dados recentes da Organização Mundial da Saúde (2021) demonstram que a poluição atmosférica compromete a saúde humana, relacionando-se ao aumento dos índices de morbimortalidade. O material particulado fino (MP<sub>2,5</sub>) é um poluente atmosférico com diâmetro inferior a 2,5 µm, o qual ultrapassa as defesas das vias aéreas e transloca-se para a circulação sistêmica, atingindo coração, rins, fígado e sistema nervoso central (EPA, 2021). O MP<sub>2,5</sub> estabelece uma relação dose-dependente entre exposição prolongada e mortalidade cardiovascular e respiratória por mecanismos de inflamação e estresse oxidativo que superam a capacidade antioxidante endógena (CHEN; HOEK, 2020).

O ROFA é fração do MP<sub>2,5</sub> rica em metais de transição e de alto potencial pró-oxidante, sendo também utilizado em estudos de modelo experimental sobre MP<sub>2,5</sub> (MEDEIROS et al., 2004). Embora os efeitos respiratórios e cardiovasculares do MP<sub>2,5</sub> sejam bem estudados, os rins permanecem órgão-alvo pouco explorado, apesar de estarem expostos ao MP<sub>2,5</sub> e sofrerem estresse oxidativo, inflamação e fibrose intersticial induzidos por essa exposição (ZHENG et al., 2021).



Além disso, este risco aumenta na gestação e na amamentação, período crítico que determina a saúde da prole. A exposição materna ao  $MP_{2,5}$  pode interferir na nefrogênese, reduzindo o número de néfrons funcionais ao nascimento, o que pode predispor a hipertensão arterial, proteinúria e doença renal crônica na vida adulta (BRENNER; GARCIA; ANDERSON, 1988). Este estudo está alinhado ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3 da Agenda 2030, assim como tem o propósito de analisar se a exposição das ratas gestantes e a sua prole, por material particulado fino (ROFA) causa alterações em parâmetros bioquímicos e peso relativo renal.

## **METODOLOGIA**

Estudo experimental *in vivo* realizado com ratas Wistar no Biotério e Laboratório de Ensaio Biológicos (LeBio) da UNIJUÍ, aprovado pela CEUA (parecer nº 021/2021). O experimento teve duração de 63 dias, compreendendo 21 dias de gestação e 42 dias correspondentes à lactação e ao desenvolvimento da prole até o correspondente a primeira infância humana (SENGUPTA, 2013; DUTTA; SENGUPTA, 2016).

As ratas Wistar prenhes foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos: Controle (CTRL; n=3), Poluído (POL; n=8), Poluído Gestação (POL-G; n=2) e Poluído Amamentação (POL-A; n=2). Durante os 21 dias de gestação, os grupos CTRL e POL-A receberam instilação intranasal de soro fisiológico 0,9%, enquanto POL e POL-G receberam ROFA (250  $\mu$ g/50  $\mu$ L), cinco dias por semana. Durante os 21 dias de amamentação, CTRL e POL-G receberam soro fisiológico, e POL e POL-A receberam ROFA na mesma concentração e frequência. Após o desmame, a prole permaneceu sem exposição até os 42 dias de vida, sendo eutanasiada aos 63 dias para coleta de tecidos.

**Material Particulado - Residual Oil Fly Ash - ROFA** - foi obtido de um precipitador eletrostático instalado na chaminé de uma siderúrgica em São Paulo (SP, Brasil). O poluente foi administrado às ratas na concentração de 250  $\mu$ g/50  $\mu$ L, cinco dias por semana, por instilação intranasal com micropipeta automática, utilizando o reflexo de apneia.

**Eutanásia** - Deu-se por decapitação em guilhotina para roedores, sem anestesia, para obtenção do sangue total e dos tecidos. Opta-se por esse método de eutanásia, pois não produz alterações fisiológicas aos tecidos. Este procedimento foi realizado no LeBio, sob supervisão de médico veterinário (responsável pelo Biotério-UNIJUÍ).



**Coleta de sangue e Plasma** - Imediatamente após a eutanásia, o sangue total da prole foi coletado, sendo parte armazenada em frasco com anticoagulante ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA) na concentração de 2 mg/mL de sangue para obtenção de plasma. O volume sanguíneo destinado à coleta de plasma foi centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos para posterior análise dos parâmetros bioquímicos hepáticos no plasma.

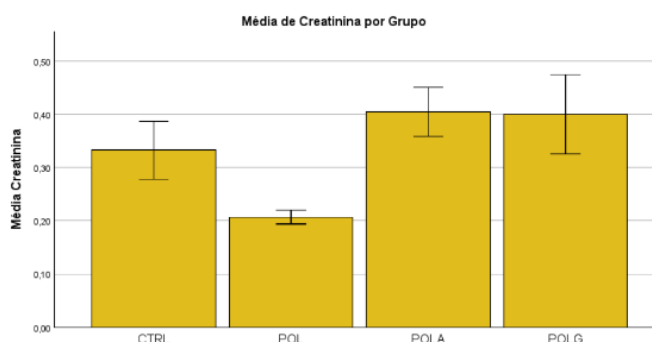
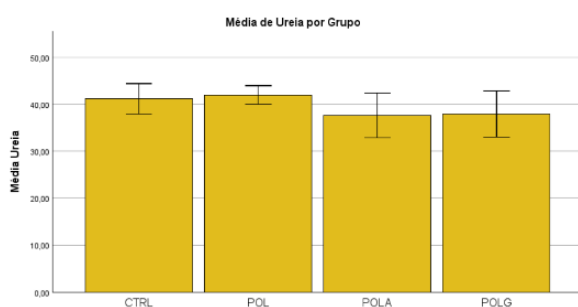
**Análises Bioquímicas no Plasma** - As concentrações plasmáticas de creatinina e ureia foram determinadas por métodos enzimáticos colorimétricos, com leitura automatizada por espectrofotometria, seguindo as recomendações do fabricante dos kits diagnósticos Roche para o equipamento COBAS Mira Plus.

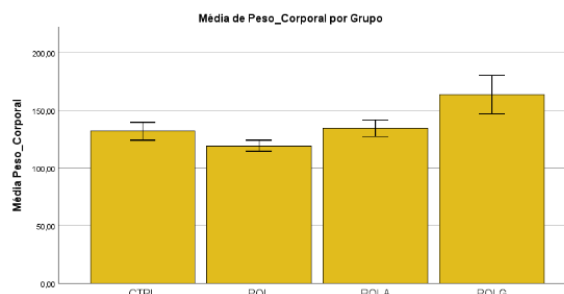
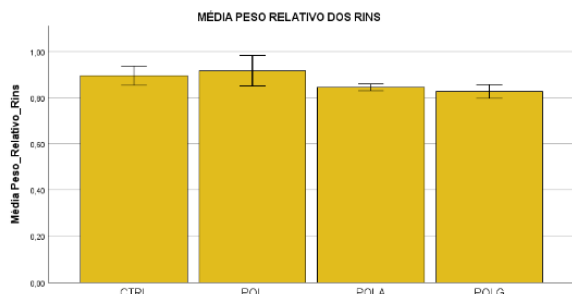
**Peso Relativo dos Tecidos** - para remoção de resíduos sanguíneos e pesados em balança analítica. O peso corporal foi determinado antes da eutanásia, e o peso relativo dos rins foi calculado pela fórmula: **Peso relativo do fígado (mg/g) = Peso do fígado (mg) / Peso corporal (g)**

**Análise estatística:** A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados paramétricos foram analisados por ANOVA One Way (correção de Welch e post-hoc de Games-Howell, quando necessário) e dados não paramétricos por Kruskal-Wallis com post-hoc de Bonferroni. As análises foram realizadas no SPSS 31.0, adotando-se  $p < 0,05$ , com resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A uréia sérica e o peso relativo dos rins não diferiram entre os grupos ( $p > 0,05$  e  $p = 0,422$ , respectivamente). A creatinina sérica foi menor no grupo POL ( $0,21 \pm 0,05$  mg/dL) em comparação aos grupos CTRL, POLA e POLG ( $p < 0,001$ ), sem diferenças entre estes. O grupo POL também apresentou menor peso corporal que os demais (CTRL:  $p = 0,004$ ; POLA:  $p = 0,033$ ; POLG:  $p < 0,001$ ), indicando efeito da exposição contínua ao ROFA durante a gestação e a amamentação sobre o crescimento da prole.





**Legenda: Figura 1a.** Concentração sérica de ureia (mg/dL) nos grupos CTRL(n=34), POL(n=54), POLA(n=24) e POLG(n=19). Não houve diferença significativa entre os grupos (Anova One Way com post-hoc Tukey;  $p=293$ ). **Figura 1b.** Concentração sérica de creatinina (mg/dL) nos grupos CTRL(n=34), POL(n=54), POLA(n=24) e POLG(n=19). O grupo POL apresentou valores significativamente menores que os demais grupos ( $*p < 0,001$ ; ANOVA de Welch:  $F(3, 38, 18) = 47,79$ ; post-hoc de Games-Howell). **Figura 1c.** Peso relativo dos rins (%) nos grupos experimentais. Não houve diferença significativa entre os grupos (Kruskal-Wallis:  $H(3) = 2,810$ ;  $p = 0,422$ ). **Figura 1d.** Peso corporal (g) nos grupos CTRL(n=34), POL(n=54), POLA(n=24) e POLG(n=19). O grupo POL apresentou menor peso que POLA e POLG, enquanto POLG apresentou maior peso que CTRL (Kruskal-Wallis:  $H(3) = 33,436$ ;  $p < 0,001$ ; comparações pareadas com correção de Bonferroni).

A redução da creatinina sérica observada no grupo POL deve ser interpretada com cautela, uma vez que esse biomarcador depende tanto da taxa de filtração glomerular quanto da massa muscular. Assim, a menor concentração de creatinina pode refletir redução da massa muscular decorrente da exposição ao ROFA, e não necessariamente preservação da função renal (VAIDYA; FERGUSON; BONVENTRE, 2008). Essa hipótese é corroborada por Brown (2014), que descreve que exposições durante períodos críticos do desenvolvimento podem comprometer a formação do músculo esquelético, resultando em redução permanente da massa muscular.

A ausência de diferenças na ureia e no peso relativo dos rins reforça as limitações desses marcadores para detectar lesões renais iniciais, uma vez que apresentam baixa sensibilidade para alterações subclínicas (VAIDYA; FERGUSON; BONVENTRE, 2008; SON *et al.*, 2024). Em contrapartida, o menor peso corporal observado na prole exposta continuamente ao ROFA sugere comprometimento do desenvolvimento durante a janela crítica da nefrogênese, em concordância com o conceito Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) e com evidências que associam baixo peso ao nascimento à redução do número de néfrons e ao maior risco de doença renal crônica (NEWSOME *et al.*, 2019). Os efeitos observados em concentrações de ROFA compatíveis com as do interior do Rio Grande do Sul indicam que baixos níveis de exposição ao material particulado podem afetar o desenvolvimento da prole.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A exposição materna ao ROFA promoveu alterações apenas na prole exposta durante a gestação e a lactação, caracterizadas por menor peso corporal e redução da creatinina sérica, sugerindo que a exposição ao deste período exerce maior impacto sobre o desenvolvimento do que exposições restritas a um período. Entretanto, a ausência de alterações nos marcadores renais tradicionais não exclui a ocorrência de lesão subclínica, sendo necessárias análises histológicas e de biomarcadores de estresse oxidativo para melhor caracterizar o comprometimento renal.

**Palavras-chave:** Poluição. ROFA. Pregnancy. Lactation. Organogenesis.

## AGRADECIMENTOS

Editais FAPERGS ARD 10/2024-25/2551-0000921-9; para PBGF.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRENNER, B. M.; GARCIA, D. L.; ANDERSON, S. Glomeruli and blood pressure: less of one, more the other? *American Journal of Hypertension*, v. 1, p. 335-347, 1988.
- CHEN, Jie; HOEK, Gerard. Long-term exposure to PM and all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and meta-analysis. *Environment International*, 2020.
- EPA–UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. What is Particulate Matter?. 2021. Disponível em: <https://www3.epa.gov/region1/eco/uep/particulatematter.html>
- MEDEIROS, N. et al. Acute pulmonary and hematological effects of two types of particle surrogates are influenced by their elemental composition. *Environmental Research*, v. 95, n. 1, p. 62-70, 2004.
- NEWSOME, A. D. et al. Renal injury after uninephrectomy in male and female intrauterine growth-restricted aged rats. *PLoS ONE*, v. 14, n. 3, e0213404, 2019.
- SON, M. H.; PARK, E.; YIM, H. E. et al. Maternal exposure to airborne particulate matter during pregnancy and lactation induces kidney injury in rat dams and their male offspring: the role of vitamin D in pregnancy and beyond. *Kidney Research and Clinical Practice*, v. 43, p. 648, 2024.
- VAIDYA, V. S.; FERGUSON, M. A.; BONVENTRE, J. V. Biomarkers of acute kidney injury. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 48, p. 463-493, 2008.
- WHO–WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO global air quality guidelines: particulate matter (PM2.5 and PM10), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide*. Geneva: WHO, 2021.
- ZHENG, X. et al. Chronic exposure to low-concentration urban PM2.5 accelerates maladaptive repair after ischemic injury via mitochondrial dysfunction. *Environmental Pollution*, 2021.
- SENGUPTA, Pallav. The Laboratory Rat: relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*, v. 4, n. 6, p. 625-630, 2013.