

## **Alterações na motilidade espermática de camundongos machos tratados com baixas doses de agrotóxicos**

**\*Laryssa de Paula Rezende<sup>1</sup> (IC) laryssa3r@hotmail.com, Weslen Lima Verdiono<sup>1</sup> (IC), Kayo Rodrigo dos Santos Borges<sup>1</sup> (IC), Daniel Ramalho Santos<sup>1</sup>(IC), Walter Dias Junior<sup>1</sup> (PQ), Klaito José Gonçalves dos Santos<sup>2</sup>(PQ).**

<sup>1</sup>Universidade Estadual Goiás, rua Lucas Marcelino dos Santos Quadra 34, Lote 03, Setor Curumim Ceres Goiás. Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica.

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Goiás, rua da saudade, nº56, Setor Vila Eduarda, São Luís de Montes Belos

Resumo: Em países que tem como fonte de renda o agronegócio, é observado um alto índice do uso de defensores químicos na agricultura, logo, evidencia-se a preocupação quanto as alterações reprodutivas que podem ocorrer em seres humanos e animais devido a exposição aos agrotóxicos comumente usados em nossa cultura. Portanto, reforçada a ideia dos agravos causados a saúde reprodutiva surge esse estudo, com objetivo de avaliar os efeitos da exposição diária de baixas doses de três distintos agrotóxicos sobre o sistema reprodutor masculino, as doses correspondem à ingestão diária aceitável padronizada pela ANVISA e ajustada de acordo com a taxa metabólica dos camundongos *Swins*. Foram utilizados 150 camundongos *Swins*, machos, adultos, divididos em 15 grupos, com 10 animais em cada um, branco, controle, intoxicados com Metamidofós, Glifosato e Mancozebe, durante 15, 30 e 60 dias. A partir desse estudo, não foi constatada alteração em relação ao peso corporal e do aparelho reprodutor, entretanto, foram reveladas alterações na motilidade espermática em função do tratamento estabelecido.

Palavras-chave: Intoxicação, alteração da motilidade, alteração das estruturas do aparelho reprodutor.

### **Introdução**

O artigo 2º da Lei 7.802/1989 define o termo agrotóxico como sendo produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, capazes de alterar a composição da fauna ou da flora, com a finalidade de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos. Em países em que a economia é fundamentada na agropecuária observa-se um alto uso desses defensivos agrícolas, adicionando assim o agrotóxico junto aos adubos e fertilizantes químicos nas lavouras agrícolas (ABRAMOVAY, 1992).

As crescentes constatações de alterações reprodutivas em seres humanos e animais associadas à exposição de disruptores endócrinos ambientais, como os agrotóxicos, reforçam a hipótese de que esses contaminantes sejam responsáveis pelo aumento da incidência de agravos de saúde reprodutiva (SPIRA et al., 1998; KOIFMAN et al., 2002; SCHELL e GALLO, 2010; ABACI et al., 2009; GUERRERO-BOSAGNA e SKINNER, 2009).

A espermatogênese completa no homem ocorre em torno de 64 a 74 dias e sua produção espermática diária é de 120 milhões de espermatozoides (HELLER e CLERMONT, 1964; BLOOM e FAWCETT, 1994). Em animais domésticos, a duração da espermatogênese estende-se pelo período de 40 a 60 dias (FRANÇA e RUSSELL, 1998) enquanto, no rato e no camundongo, completam-se em 52,3 dias e em 48 dias, respectivamente (HUCKINS, 1978).

Um dos requisitos que define fertilidade é a motilidade espermática, quando há alguma alteração, reduz-se a capacidade de penetração desse espermatozoide no muco cervical, não havendo assim introdução no ovócito, diminuindo a capacidade fértil do indivíduo (PETROCHELLI, 2010).

Esse estudo, visa determinar anormalidades na motilidade espermática em camundongos em exposição diária a baixas doses de agrotóxicos, avaliando qualquer alteração no sistema reprodutor masculino que comprometa a capacidade fértil desses camundongos.

## Material e Métodos

Foram utilizados 150 camundongos Swiss, machos adultos pesando aproximadamente 40g e com 60 dias de idade, divididos em 15 grupos com 10 animais em cada um. Os animais têm como origem o Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG), e foram mantidos no Biotério de Manutenção do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da UEG Campus Ceres-GO por 15 dias antes de iniciar os tratamentos/experimento.

Os tratamentos consistiram nos grupos Branco, Controle, Intoxicados com Metamidofós, Glifosato e Mancozebe durante 15, 30 e 60 dias. O Grupo Branco não recebeu nenhum procedimento, o grupo Controle recebeu água (veículo) v.o., e os grupos intoxicados receberam a dose de agrotóxico em um volume total de 100 microlitros, sendo a dose corresponde ao valor mínimo de ingestão diária aceita pela

ANVISA. A administração via oral ocorreu por gavagem, realizada por alunos treinados nesse procedimento.

As doses dos agrotóxicos correspondem à ingestão diária aceitável (IDA) padronizada pela ANVISA, sendo Glifosato de 0,014mg/Kg, Metamidofós de 0,004mg/Kg e Mancozebe de 0,03mg/Kg, as quais foram corrigidas, tendo como base a área superficial do corpo para os camundongos, como recomendado por Reagan-Shaw et al (2007). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Uso de Animais da UEG (CEUA) protocolo Nº 047/16.

Após completar cada período de intoxicação, os animais foram eutanaziados para coleta do aparelho reprodutor e outros tecidos. Os órgãos reprodutores masculinos esquerdos (canal deferente, cabeça e cauda do epidídimo) foram retirados, pesados em balança de precisão. Para a avaliação da motilidade dos espermatozoides, o canal deferente foi seccionado nas extremidades e lavado, com o auxílio de uma seringa acoplada a uma agulha, com 1,5 mL de leite integral. O lavado foi mantido em um tubo de ensaio e logo após, foram feitas a avaliação da motilidade em microscópio ótico. Esta análise foi realizada no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da UEG Campus Ceres-GO.

## Resultados e Discussão

Os valores das estruturas do aparelho reprodutor estão apresentados na Figura 1. Não foram observadas nenhuma alteração ( $P>0,05$ ) na massa de nenhuma das estruturas do aparelho reprodutor masculino dos camundongos tratados com baixas doses de agrotóxicos durante 15, 30 e 60 dias.

Esses dados revelam que os valores determinados pela ANVISA como aceitáveis para IDA (ingestão diária aceitável) não promovem alteração morfológica que reflete alterações na massa do aparelho reprodutor.

A Figura 2 ilustra os resultados da motilidade espermática dos camundongos. Pode-se observar que a motilidade dos espermatozóides foi alterada em função do tratamento e do tempo de tratamento, revelando portanto uma queda de 62,5% (metamidofós), 31,25% (glifosato) e 50% (mancozebe) aos 15 dias de intoxicação, de 38,88% (metamidofós), 88,88% (glifosato) e 55,55% (mancozebe) aos 30 dias de intoxicação e 87,71% (glifosato), 92,85% (mancozebe) aos 60 dias de intoxicação.

Entretanto, não foi observada nenhuma alteração na motilidade espermática nos animais tratados com metamidofós durante 60 dias.

Isso mostra que apesar da dosagem dos agrotóxicos ser baixa e considerada segura pela ANVISA, promove alterações funcionais, as quais muitas vezes não são facilmente percebidas. Assim, a intoxicação crônica com baixas doses interfere na motilidade espermática e consequentemente na reprodução masculina.

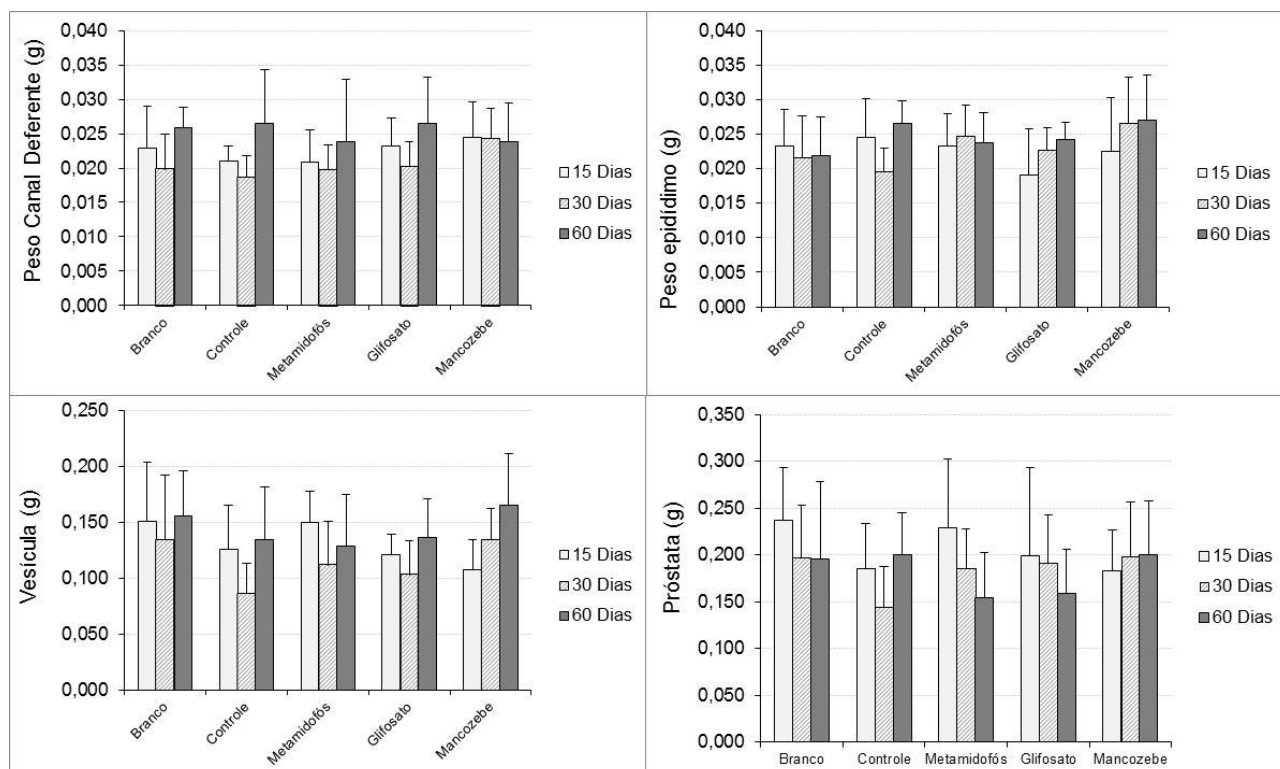


Figura 1: Peso das estruturas do aparelho reprodutor de camundongos tratados com agrotóxicos, Metamidofós, Glifosato e Mancozebe durante 15, 30 e 60 dias.

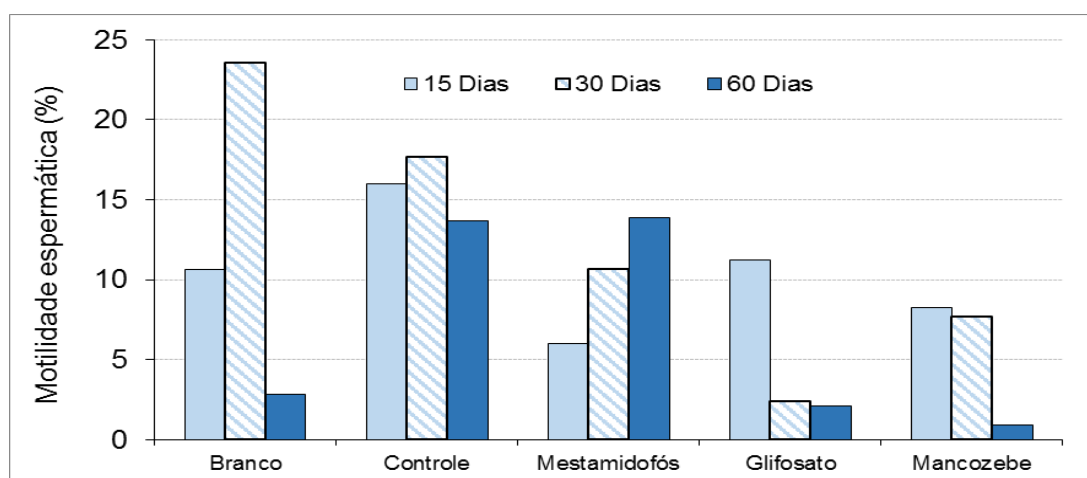


Figura 2: Motilidade espermática (%) do lavado do canal deferente de camundongos tratados com Metamidofós, Glifosato e Mancozebe durante 15, 30 e 60 dias.

## Considerações Finais

A Ingestão Diária Aceitável determinada pela ANVISA não promove alteração na massa de nenhuma das estruturas do aparelho reprodutor dos camundongos. Por outro lado, promove diminuição na motilidade espermática, sendo o mancozebe o agrotóxico mais prejudicial para essa característica reprodutiva. Assim, mesmo em baixas doses esses agrotóxicos prejudicam a reprodução masculina.

## Agradecimentos

À Universidade Estadual de Goiás, ao edital CCB 001/2016 ao orientador, Dr. Walter Dias Junior, aos colegas de laboratório de fisiologia e bioquímica toxicológica da UEG – Câmpus Ceres e aos pais.

## Referências

- ABACI, A.; DEMIR, K.; BOBER, E.; BUYUKGEBIZ A. Endocrine disrupters - with special emphasis on sexual development. *Pediatr. Endocrinol. Rev.* Jun; v.6, p.464-75, 2009.
- ABRAMOVAY, R. **Paradigmas do capitalismo agrário em questão**. Hucitec - Anpocs - Editora da Unicamp, São Paulo - Rio de Janeiro – Campinas, 1992.
- BLOOM, W. FAWCETT, D. W. **Tratado de Histologia**. Interamericana, 1994.
- FRANÇA, L. R. RUSSELL, L. D. **Testis of Domestic Animals**. Multidisciplinary, 1998.
- GUERRERO-BOSAGNA C.M, SKINNER M.K. **Epigenetic transgenerational effects of endocrine disruptors on male reproduction**. *Semin Reprod Med.* Sep; v.27, n.5, p.403-8. 2009.
- HELLER, C.H.; CLERMONT, Y. **Recent progress in hormone research, 1964**.
- HUCKINS, C. **The Anatomical Record**. Wiley Online Library, 1978.
- KOIFMAN, S. PAUMGGARTTEN, FJ. **Impact of environmental endocrine-active substances on public health**. *Cad Saude Publica.* v.18, n.2, p.354-5, 2002.
- PETROCHELLI, T. **Avaliação de parâmetros reprodutivos e análise histológica do testículo de ratos expostos ao cádmio *in utero* e durante a lactação**. Sorocaba, 2010.
- REAGAN-SHAW, Shannon. NIHAL, Minakshi. AHMAD, Nihal. Dose translation from animal to human studies revisited. **The FASEB Journal**. Vol. 22 (3): 659-661. EUA, 2007.
- SHELL LM, GALLO MV. **Relationships of putative endocrine disruptors to human sexual maturation and thyroid activity in youth**. *Physiol Behav.* Feb v.99, n.2, p.246-53, 2010.
- SPIRA, A.; MULTIGNER, L. **The effect of industrial and agricultural pollution on human spermatogenesis**. *Hum Reprod.* v.13, n.8, p.2041-2, 1998.