

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO SOBRE O COMPORTAMENTO SEXUAL DE CAMUNDONGOS MACHOS

Carla Fernandes dos Santos¹;
Adriano Guimarães²;
Renata Mazaró e Costa³;
Walter Dias Junior⁴

¹Graduanda de Enfermagem, PIBIC/CNPq, Universidade Estadual de Goiás (UEG) Câmpus Ceres,GO, carlinhacfs@hotmail.com; ² Graduando de Enfermagem UEG Câmpus Ceres,GO; ³Pesquisador Colaborador, Laboratório Fisiologia e Farmacologia da Reprodução Universidade Federal de Goiás, Goiânia,GO; ⁴Orientador. Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da UEG Câmpus Ceres,GO.

INTRODUÇÃO

As indústrias químicas ligadas à agricultura e pecuária vêm produzindo milhares de novos produtos a cada ano. Durante os últimos cinquenta anos, muitos produtos químicos foram sintetizados e liberados para utilização no meio ambiente. Seu uso indiscriminado leva ao acúmulo indesejado no ambiente, e a contaminação dos seres humanos, cujos efeitos residuais podem ser agudos ou crônicos, na dependência do tempo de exposição, concentração no ambiente, modo de contato com o produto e tipo de degradação. Um desses efeitos deletérios é a alteração do padrão dos hormônios que regulam a reprodução, promovendo queda na fertilidade e até infertilidade (SANTOS, 2011).

O uso de agrotóxicos (inseticidas, herbicidas e fungicidas) aumentou nos últimos anos e o Brasil é um dos países que mais consomem esses produtos, sendo o maior da América Latina. Os agrotóxicos geralmente produzem efeito deletério, causando uma série de alterações. A utilização maciça desses agroquímicos resulta em exposição contínua do homem, o que pode ser uma causa possível de várias doenças, assim como, um fator envolvido diretamente com a diminuição da fertilidade humana (URAKAWA, 2013).

As crescentes constatações, de alterações reprodutivas em seres humanos e animais, associadas à exposição de agrotóxicos, os quais são classificados como desreguladores

endócrinos ambientais, reforçam a hipótese de que esses contaminantes são responsáveis pelo aumento da incidência de agravos de saúde reprodutiva (SPIRA et al., 1998; KOIFMAN et al., 2002; ABACI et al., 2009; GUERRERO-BOSAGNA e SKINNER, 2009; SCHELL e GALLO, 2010).

Um grande número de agrotóxicos apresenta atividade potencialmente capaz de desregular o equilíbrio endócrino de seres humanos e animais, sendo que a exposição a esses disruptores estaria associada ao surgimento de cânceres, a modificação na razão entre sexos ao nascimento, infertilidade, más-formações congênitas no trato genital masculino e a modificações na qualidade do sêmen (SOARES, 2010).

Apesar dos agrotóxicos serem extremamente tóxicos e danosos ao homem e ao meio ambiente, devido a demanda cada vez maior por alimentos, eles continuam sendo utilizados indiscriminadamente. Uma vez que os agrotóxicos são lançados no meio ambiente, vários compartimentos ambientais são prejudicados, causando sérios impactos nos processos naturais. Os herbicidas são os mais utilizados, seguido dos inseticidas (NOBREGA, 2014).

Neste cenários os estudos toxicológicos visam promover a exposição de animais experimentais pela via oral a diferentes agrotóxicos na tentativa de aproximar-se ao que a população humana está sujeita por meio da dieta (ROSSI, 2005).

Nas avaliações toxicológicas, há uma especificidade que é a toxicologia reprodutiva, e um dos parâmetros avaliados é o comportamento sexual, principalmente quando se estuda disruptores endócrinos. A partir do momento em que alguns trabalhos mostram a importância do estudo do comportamento sexual na qualidade de vida do ser humano, muitos estudos têm sido realizados a fim de compreender a fisiologia da função sexual. A partir dessa compreensão, intervenções, sejam elas farmacológicas, comportamentais ou cirúrgicas, podem agir positivamente, revertendo quadros patológicos (ALMEIDA, 2006). LIMA (2001) afirma que são inegáveis os prejuízos sobre o sistema reprodutor masculino, causados pelo consumo abusivo de agrotóxicos, o qual altera a capacidade reprodutiva de diferentes espécies animais.

Ressalta-se que a enzima aromatase (responsável pela conversão da testosterona circulante em estradiol) também sofre efeito do glifosato, um agrotóxico muito utilizado mundialmente. A exposição a esse herbicida pode promover alterações no processo de masculinização, principalmente durante o desenvolvimento, e levar a alterações

comportamentais, histológicas e problemas reprodutivos (ROMANO et al., 2012). Assim, o glifosato tem sido descrito como um disruptor endócrino que afeta o sistema reprodutivo masculino, tendo um impacto sobre a fertilidade masculina, no entanto, a base molecular da sua toxicidade ainda precisa ser esclarecida (CAVALLI et al, 2013).

OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da exposição diária de Glifosato, em concentração aceitável e preconizada pela ANVISA, sobre o sistema reprodutor masculino de camundongos, por meio do acompanhamento do comportamento sexual, utilizando parâmetros reprodutivos masculinos como, (1) Número de montas, intromissões e ejaculações; (2) Latência da primeira: monta, intromissão e ejaculação.

METODOLOGIA

Foram utilizados um total de 90 camundongos *Swiss (Mus musculus)*, 30 machos e 60 fêmeas, sexualmente maduros, pesando aproximadamente 30g, oriundos do Biotério Central da UFG. Após o período de adaptação no novo ambiente, os animais receberam as doses de Roundup®(glifosato) por meio de gavagem, por 30 dias consecutivos, os tratamentos foram aplicados em 3 grupos, com 10 animais em cada um, sendo: Branco sem intervenção, Controle (gavagem com água) e Tratado (gavagem com 0,35mg glifosato/PC – peso corporal, que corresponde à Ingestão Diária Aceitável determinada pela ANVISA). A aplicação do agrotóxico seguiu a proporção de 100mcL/PC, para manter a relação volume/PC em cada animal.

O experimento de intoxicação crônica e da avaliação do comportamento sexual dos camundongos foi conduzido no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da Câmpus Ceres-GO.

A avaliação do comportamento sexual foi baseada no método descrito por AHLENIUS e LARSSON (1984) adaptado para camundongos, no qual os machos foram avaliados usando-se uma fêmea isca em estro natural, que foi confirmado por meio de citologia vaginal

descrita por SHOR (1941). Durante o cruzamento (filmado) foram analisados o número de montas, intromissões e ejaculações, assim como, a latência da primeira: monta, intromissão e ejaculação.

Para essa avaliação, cada macho foi retirado de sua gaiola moradia e colocado, antes da fêmea, individualmente na caixa de observação forrada com serragem. Após 5 minutos de ambientação, introduziu-se a fêmea isca, dando início a filmagem e observação do comportamento sexual do macho, por 30 minutos usando-se uma câmera filmadora. Depois desse processo, os vídeos foram analisados, registrando-se os seguintes índices: (1) Latência da primeira monta (LPM); (2) Latência para primeira intromissão (LPI); (3) Número de montas incompleta (MI); (4) Número intromissões (NI); (5) Latência para ejaculação (LPE); (6) Número total de ejaculações (NE).

Aos dados foram aplicados o teste “t” de Student, com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para que se tenha monta, intromissão e ejaculação, e por conseguinte, suas latências e outros parâmetros avaliativos do comportamento sexual dos camundongos machos, HULL e DOMINGUEZ (2007) descreve o enredo do desempenho copulatório, que começa com o macho investigando a região anogenital da fêmea, por muitas vezes levantando ou empurrando-a com o focinho. Em seguida, pressiona as patas dianteiras contra os flancos do sexo feminino e faz rápidos movimentos pélvicos superficiais. Quando o pênis entra na vagina da fêmea, seu empurrão repetido torna-se mais lento e profundo. Após inúmeras intromissões, o macho ejacula, momento a partir do qual ele pode congelar por 25 segundos antes de desmontar ou cair da fêmea.

O desempenho sexual está relativamente ligado ao número de intromissões, número de ejaculações e latência da primeira ejaculação. A motivação, apetite sexual ou libido refere-se à latência para a primeira monta e intromissão, e também número total de montas, assim sugerido por RODRIGUES-ALVES (2003), afim de classificar como se avalia o desempenho ou potência sexual, assim como a facilidade pela qual o comportamento é ativado ou sofre interferência.

O Número de montas incompletas, Número de intromissões, Número de Ejaculações, Latência de Primeira Monta, Latência de Primeira Intromissão e Latência de Primeira



Ejaculação dos camundongos machos intoxicados durante 30 dias estão apresentados na Tabela 1. É possível observar que os animais tratados com Glifosato não apresentaram intromissão e nem ejaculação, o que segundo RODRIGUES-ALVES (2003) causa déficits no desempenho copulatório, uma vez que prejudica a consumação ou potência sexual. Também pode-se perceber que a quantidade de montas foi reduzida em relação aos demais grupos comprometendo o apetite sexual.

Tabela 1: Número de montas incompletas (MI), Número de intromissões (NI), Número de Ejaculações (NE), Latência de Primeira Monta (LPM), Latência de Primeira Intromissão (LPI) e Latência de Primeira Ejaculação (LPE), de camundongos *Swiss*, intoxicados durante 30 dias com Glifosato (0,35 mg/Kg de peso corporal).

Tratamento	Minutos	LPM (s)	LPI (s)	LPE (s)	MI	NI	NE
Branco	30	151	691	660	256	40	2
Controle	28	512*	934*	0*	144	4*	0
Glifosato	30	441*	0*	0*	60*	0*	0

n=10; As Latências foram calculadas em segundos. * (p<0,05) vs Branco.

Mediante o exposto pode-se afirmar que a dose de 0,35 mg do glifosato por Kg de peso corporal, que corresponde à Ingestão Diária Aceitável determinada pela ANVISA, parece ser segura, pois as alterações observadas no comportamento sexual dos camundongos sugerem ser efeito estressante do processo de intoxicação (gavagem).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A intoxicação durante 30 dias, com baixas doses do herbicida glifosato, parece não influenciar o comportamento sexual. Por outro lado, o procedimento de intoxicação que os animais foram submetidos parece ter influenciado o comportamento sexual, prejudicando a cópula, pois houve uma diminuição no número de montas e inexistência de intromissões nos animais deste experimento.

Esse trabalho contribui no aumento do esclarecimento da extensão dos efeitos dos

Pirenópolis – Goiás – Brasil

20 a 22 de outubro de 2015

agrotóxicos sobre o comportamento sexual masculino. Isso torna possível a conscientização da sociedade quanto à importância dos riscos do consumo diário de alimentos contaminados com agrotóxicos, além de gerar conhecimento científico sobre o comportamento do aparelho reprodutor frente aos xenobióticos e a contaminação ambiental.

AGRADECIMENTOS

UEG Programa de Iniciação Científica e Tecnológica da Universidade Estadual de Goiás- PIC&T/PrP/UEG, modalidade PBIC/UEG, PIBIC/CNPq, PVIC/UEG. Edital Interno – PrP 001/2014. MEC-SESu pela bolsa de Tutor PET de RMC.

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.
- AHLENIUS, S.; LARSSON, K. Apomorphine and haloperidol-induced effects on male rat sexual behavior. No evidence for actions due to stimulation of central dopamine autoreceptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* , v. 21, p. 463- 466, 1984.
- ALMEIDA, R.N. 2006. *Psicofarmacologia: Fundamentos Práticos*. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 25, p. 301-321.
- CAVALLI, V. L. L. O. et al. Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radical Biology and Medicine* 65 (2013) 335–346
- 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.
- HULL, E.M.; DOMINGUEZ, J. M. Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav.* 2007 June; 52(1): 45–55.
- KOIFMAN, S. PAUMGGARTTEN, FJ. Impact of environmental endocrine-active substances on public health. *Cad Saude Publica.* v.18, n.2, p.354-5, 2002.
- LIMA, F.J.C.; MARQUÊS, PRBO.; NUNES, G.S.; TANAKA, S.M.C. Inseticida organofosforado metamidofós: aspectos toxicológicos e analíticos. *Pesticidas: R.Ecotoxicol. e*



*Interdisciplinaridade e currículo:
uma construção coletiva*



Meio Ambiente, Curitiba, v.11, p.17-34, 2001.

NOBREGA, H. F. Pesticidas: Classificação, Propriedades, Toxicidade, Problemas e Soluções. Disponível em: <http://www.webartigos.com/artigos/pesticidas-classificacao-propriedades-toxicidade-problemas-e-solucoes/121404> Publicado em 09/05/2014, Acessado em 19/11/2014

RODRIGUES-ALVES, P. S. B. Efeitos da moxidectina no comportamento sexual de ratos machos. Dissertação de Mestrado. Núcleo de Pesquisa em Neurociência e Comportamento, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo: 2003.

ROSSI, SC. Avaliação dos efeitos da mistura de pesticidas sobre o sistema reprodutivo de ratas wistar expostas durante a prenhez e lactação. Monografia da graduação em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, 2005.

ROMANO, M.A.; ROMANO, R.M.; SANTOS, L.D.; WISNIEWSKI, P.; CAMPOS, D.A.; SOUZA, P.B.; VIAV, P.; BERNARDI, M.M.; NUNES, M.T.; OLIVEIRA, C.A. Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. Arch. Toxicol., v.86, p.663-673, 2012. DOI: 10.1007/s00204-011-0788-9.

SHORR E. A new technique for staining vaginal smears: a single differential stain. Science. 1941;94:545.

SANTOS, L. D. Efeito da exposição perinatal ao herbicida glifosato-roundup na diferenciação sexual e endocrinologia reprodutiva. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Centro-Oeste - UNICENTRO, Guarapuava, 2011

SCHELL 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.

SOAES, W. L. Uso dos agrotóxicos e seus impactos à saúde e ao ambiente: uma avaliação integrada entre a economia, a saúde pública, a ecologia e a agricultura. Tese de Doutorado da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 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.

URAKAWA, V. K. Agrotóxicos e Saúde: Avaliação de Riscos e Aspectos de Saúde entre Trabalhadores Rurais. UNICAMP, Campinas-SP, 2013.

Pirenópolis – Goiás – Brasil

20 a 22 de outubro de 2015