



sobre as funções metabólicas e a saúde respiratória das crianças. O fígado é um órgão de múltiplas funções importantes para o melhor funcionamento do organismo, sendo responsável por metabolismo, como por exemplo dos lipídios (Korten; Ramsey; Latzin, 2017). Nesse contexto, o objetivo do presente estudo é analisar se há exposição das ratas gestantes e sua prole à poluição atmosférica causa alteração nas concentrações de lipídios no fígado e no plasma dos animais. Dentro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) nosso resumo se encontra dentro do objetivo 3.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo experimental, em modelo animal, de exposição à poluição atmosférica, aprovado pela CEUA-UNIJUÍ protocolo 021/2021. O estudo foi realizado no Laboratório de Ensaio Biológicos - LeBio, Sala de experimentação do Biotério e Laboratório de Análises Clínicas (UNILAB) da UNIJUÍ. Para realização deste estudo, foram utilizados 6 ratos machos Wistar e 12 ratas fêmeas Wistar, com 50 a 60 dias de vida, provenientes e alojados no Biotério da UNIJUÍ. Durante um período de 63 dias, distribuídos em duas fases distintas, sendo a primeira com a duração de 21 dias, correspondente ao período gestacional das ratas, e a segunda fase com 42 dias, abrangendo o período de amamentação da prole, equivalente ao desenvolvimento humano no primeiro ano de vida (Andreollo et al., 2012; Sengupta, 2013), durante a fase de amamentação.

Durante a primeira fase deste estudo, 6 ratos machos *Wistar* e 12 ratas fêmeas *Wistar* foram inicialmente alojados em oito caixas específicas para roedores, com duas fêmeas e um macho por caixa, durante cinco dias para o acasalamento. Ao final deste período, foram avaliados os sinais de gestação das ratas. As doze ratas gestantes foram então distribuídas aleatoriamente em dois grupos: controle (n=6) e poluição (n=6). No grupo Poluição, as fêmeas gestantes receberam instilação intranasal de ROFA na concentração de 250µg/50µL, cinco dias por semana, ao longo de 21 dias durante o período de gestação. No grupo Controle, as fêmeas gestantes receberam instilação intranasal de soro fisiológico 0,9%, também cinco dias por semana, ao longo de 21 dias. Ao final do período de amamentação, no 63º dia do experimento, as mães e os filhotes foram eutanasiados para análises.

Imediatamente após a eutanásia, o sangue total da prole foi coletado, sendo armazenada em frasco com EDTA (2 mg/mL) para alíquotas de plasma. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, sendo a alíquota de plasma utilizada para



determinação dos lipídios. Após a coleta de sangue, os animais foram dissecados para coleta do fígado, o qual foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido com auxílio de *freeze clamp*, sendo mantido em nitrogênio líquido até as análises laboratoriais. Posteriormente os fígados foram colocados em microtubos para homogeneização em tampão KPi, centrifugados e o sobrenadante foi coletado para mensuração de colesterol total e triglicerídeos.

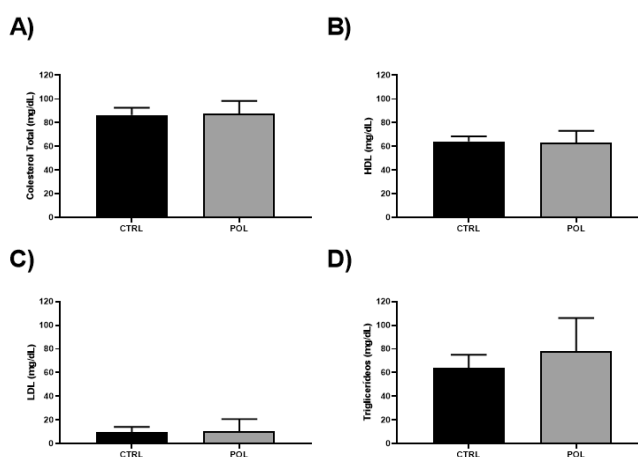
A determinação do Colesterol Total, c-LDL, c-HDL e Triglicerídeos, tanto no plasma quanto nos tecidos, foram determinados através de métodos enzimáticos colorimétricos, nos quais os lipídios são hidrolisados por enzimas específicas, resultando na formação de produtos de cor. A absorbância da cor produzida foi quantificada por espectrofotometria, realizadas no analisador automático bioquímico automatizado COBAS INTEGRA® 400 plus.

A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma e duas vias, seguida do pós teste de Tukey. Também serão realizadas análises de associação e de correlação de Pearson, no programa estatístico GraphPad Prism 7.0. Para nível de significância estatística será considerado $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nosso estudo a exposição ao ROFA, durante a gestação, não promoveu alterações nas concentrações plasmáticas dos lipídios, uma vez que não identificamos alterações significativas nos resultados de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicerídeos. Neste sentido, nossos resultados demonstram que os parâmetros lipídicos da prole analisada permaneceram dentro da normalidade e que não foram identificadas perturbações ou anomalias que sugerissem disfunções metabólicas ou riscos associados.

Figura 1: Níveis de Colesterol Total, HDL, LDL e Triglicerídeos analisados no plasma dos animais.

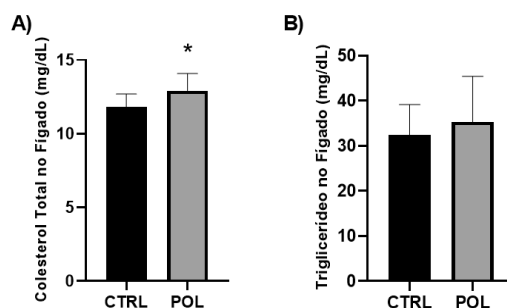




Legenda: A) Colesterol Total no grupo controle (n=11) e grupo poluído (n=52). Foi realizado Test T não pareado, com o resultado de $P = 0,7052$. B) Colesterol HDL do grupo controle (n=11) e grupo poluído (n=52). Foi realizado Test T não pareado, com o resultado de $P = 0,7447$. C) Colesterol LDL no grupo controle (n=11) e grupo poluído (n=52). Foi realizado Mann Whitney não pareado, com o resultado de $P = 0,7769$. D) Triglicerídeos do grupo controle (n=11) e grupo poluído (n=51). Foi realizado Mann Whitney não pareado, com o resultado de $P = 0,1025$.

Já em relação à figura 2, demonstramos que a exposição ao ROFA, durante a gestação, promoveu um aumento na concentração hepática de colesterol, na prole do grupo poluído ($P = 0,0292$). No entanto, não identificamos diferenças na concentração de triglicerídeos no fígado na prole dos animais do grupo controle e poluído ($P = 0,5348$).

Figura 2: Concentração de Colesterol Total e Triglicerídeo no fígado da prole.



Legenda 2. Colesterol Total no Fígado do grupo controle (n=11) e grupo poluído (n=12). Foi realizado Mann Whitney não pareado, com o resultado de $P = 0,0292$.

O aumento nas concentrações de colesterol no fígado dos animais do grupo poluído, pode estar associado com a deposição de lipídios no fígado em decorrência dos efeitos citotóxicos, assim como prejudicar a organogênese e desenvolvimento dos órgãos, como no fígado, identificado a partir da deposição de lipídios (Korten; Ramsey; Latzin, 2017). Além disso, no estudo de Guo et al. (2002) demonstrou-se que a poluição atmosférica desempenha um papel significativo no desenvolvimento da doença hepática gordurosa. Jedrychowski et al. (2010), num estudo com 214 gestantes expostas demonstrou que a exposição do feto pela via transplacentária ao $MP_{2,5}$ pode resultar na desregulação de citocinas pró inflamatórias, as quais podem promover alterações na função de diversos órgãos e sistemas, como no fígado, assim como observado em nosso estudo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados de nosso estudo, abrem perspectivas de que a exposição pré natal à poluição atmosférica desempenha efeitos citotóxicos no fígado, desencadeando um quadro de lesão celular e consequente acúmulo de lipídios.

Palavras-chave: ROFA. Gestação. Perfil Lipídico. Colesterol. Fígado

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS, CAPES, PPGAIS-UNIJUÍ.



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.
- Arias-Pérez, Rubén D. et al. Inflammatory effects of particulate matter air pollution. Environmental Science and Pollution Research, [s. l.], v. 27, n. 34, p. 42390-42404, 2020.
- Chang, Huai Chia et al. Lipoteichoic acid-induced tnf- α and il-6 gene expressions and oxidative stress production in macrophages are suppressed by ketamine through downregulating toll-like receptor 2-mediated activation of erk1/2 and nf- κ b. Shock, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 485-492, 2010.
- Ghio, Andrew J et al. Biologic Effects of Oil Fly Ash Effects of Residual Oil Fly Ash. Environmental Health, [s. l.], v. 110, n. September 2001, p. 89-94, 2002.
- Guo B. Guo Y. Nima Q. Feng Y. Wang Z. Lu R., et al. Exposure to air pollution is associated with an increased risk of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. J Hepatol. 2022.
- Jedrychowski, Wieslaw A et al. Effect of Prenatal Exposure to Fine Particulate Matter on Ventilatory Lung Function Of Preschool Children of Nonsmoking Mothers. Krakow Inner City Birth Cohort Prospective Study Nih Public Access Author Manuscript. Paediatr Perinat Epidemiol, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 492-501, 2010.
- Korten, Insa; Ramsey, Kathryn; Latzin, Philipp. Air pollution during pregnancy and lung development in the child. Paediatric Respiratory Reviews, [s. l.], v. 21, p. 38-46, 2017.
- Miller, Mark R; Shaw, Catherine A; Langrish, Jeremy P. From particles to patients: oxidative stress and the cardiovascular effects of air pollution. Future Cardiol., [s. l.], v. 8, p. 577-602, 2012.
- Sengupta, Pallav. The laboratory rat: Relating its age with human's. International Journal of Preventive Medicine, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 624-630, 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- β /Smad3 signaling. Toxicology Letters, [s. l.], v. 267, p. 11-20, 2017.
- Who. Who global air quality guidelines. Particulate matter (PM2.5 and PM10), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide. [S. l.: s. n.], 2021.
- Yang, Liyao; Li, Cheng; Tang, Xiaoxiao. The Impact of PM2.5 on the Host Defense of Respiratory System. Frontiers in Cell and Developmental Biology, [s.l.], v. 8, n. March, p. 1-9, 2020.