

**Evento:** XXXIII Seminário de Iniciação Científica ▾**EXPOSIÇÃO MATERNA À MATERIAL PARTICULADO FINO (MP_{2,5}) PROMOVE
PERFIL PRÓ-INFLAMATÓRIO AGUDO NA PROLE DE RATAS WISTAR¹****Fernanda Daltrozo Ernandes², Andiele Bueno Mendes³, João Henrique Eckert⁴, Nadine
Leiria Pare⁵, Pauline Brendler Goettens Fiorin⁶, Matias Nunes Frizzo⁷**

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GP_{PeF}) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ).

² Aluna do curso de Biomedicina - UNIJUÍ; Bolsista de Iniciação Científica FAPERGS (GP_{PeF}).

³ Aluna do curso de Biomedicina - UNIJUÍ;

⁴ Aluno do curso de Medicina - UNIJUÍ;

⁵ Mestranda em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS - UNIJUÍ;

⁶ Professora PPGAIS (UNIJUÍ) pesquisadora do projeto Efeitos da Exposição Materna à Poluição Atmosférica Nos Marcadores Pró-Inflamatórios e de Estresse Oxidativo da Prole (GP_{PeF}).

⁷ Professor PPGAIS (UNIJUÍ) orientador do projeto Efeitos da Exposição Materna à Poluição Atmosférica Nos Marcadores Pró-Inflamatórios e de Estresse Oxidativo da Prole (GP_{PeF}).

INTRODUÇÃO

O material particulado fino (MP_{2,5}), partículas com diâmetro menor que 2,5 µm, emitidas pela combustão de fontes móveis e estacionárias, são capazes de atingir porções mais inferiores do trato respiratório, por seu menor tamanho e facilidade de difusão das vias respiratórias até os alvéolos pulmonares, o que resulta no aumento do desenvolvimento de doenças e infecções respiratórias como asma, câncer de pulmão, infecções de vias aéreas superiores e inferiores, chiado, tosse, dor no peito, hipersecreção pulmonar, aumento de internações e da mortalidade (CANÇADO *et al*, 2006). Como, por exemplo, o *Residual Oil Fly Ash* (ROFA) que é um tipo de material particulado fino de diâmetros variáveis provenientes da queima de combustíveis fósseis e/ ou de resíduos industriais.

Os efeitos da poluição na gestação influenciam tanto na saúde materna quanto neonatal. Nesse contexto, Aguilera *et al*. (2023) revelam a associação da poluição atmosférica com hipertensão gestacional, pré-eclampsia ou eclampsia, depressão pós-parto, descolamento da placenta, parto prematuro, mortalidade infantil, baixo peso ao nascer e mal desenvolvimento pulmonar e respiratório. Em vista disso, as crianças, especialmente as na primeira infância, são as mais afetadas pelas condições impróprias do ar, pois, apresentam um sistema respiratório mais frágil, em fase de desenvolvimento e maturação, sendo assim, mais suscetíveis às doenças respiratórias, hematopoiéticas e autoimunes (VIANA *et al*, 2009).



Segundo Poursafa et al. (2011) o estado inflamatório do trato respiratório superior e inferior, provocado pela exposição ao material particulado fino, demonstra uma relação significativa a exposição, agravos clínicos e do estado pró-inflamatórios, mas ainda são escassos estudos que apresentam esta investigação pautada nas contagens leucocitárias. Deste modo, o presente estudo planejou investigar a associação da exposição materna ao ROFA durante a gestação e lactação e a evidência de seus efeitos nos parâmetros leucocitários da prole de ratas wistar. Este trabalho está alinhado à Meta 3.9 dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS).

METODOLOGIA

Este estudo foi realizado na Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul/UNIJUÍ, no Biotério da UNIJUÍ e Laboratório de Ensaio Biológicos - LeBio em conjunto ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPpF. Aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIJUÍ (N. 021/2021).

Delineamento Experimental: estudo experimental realizado em modelo animal *in vivo* ao decorrer de 63 dias, em duas etapas. A primeira etapa com duração de 21 dias, corresponde ao período gestacional das ratas, e a segunda etapa, de 42 dias, corresponde ao período de amamentação da prole e desenvolvimento do primeiro ano de vida do humano, caracterizando a primeira infância (SENGUPTA, 2013; DUTTA AND SENGUPTA, 2016).

Das ratas colocadas para acasalamentos, apenas 3 evoluíram para gestação durante o estudo, constituindo os respectivos grupos abaixo:

- Grupo Controle: Fêmeas gestantes (n=1) receberam instilação intranasal de soro fisiológico 0,9%, iniciado no primeiro dia de gestação, administrado cinco dias por semana, ao longo de 21 dias, correspondendo ao período de gestação.
- Grupo Poluído: Fêmeas gestantes (n=2) receberam instilação intranasal do ROFA na concentração de 500µg/100µL, iniciando no primeiro dia de gestação, administrado cinco dias por semana, ao longo de 21 dias, correspondendo ao período de gestação.

Durante a segunda etapa deste estudo, as puérperas receberam contínua instilação durante mais 21 dias, tempo correspondente ao período de amamentação. Após, foram separadas dos filhotes finalizando a amamentação e sendo acompanhados, sem instilação, até a prole completar 42 dias de vida equivalentes à primeira infância humana (DUTTA, 2016).

Ao final do delineamento experimental os animais foram eutanasiados para coleta de tecidos e de sangue. O sangue total da prole foi coletado, sendo parte armazenada em frasco com anticoagulante ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA, 2 mg/mL).



Leucograma: a determinação do perfil leucocitário foi realizada em analisador hematológico MaxCell 500D Vet (Medmax), seguindo as recomendações do fabricante. Obtendo-se os seguintes parâmetros: contagem total de leucócitos e contagem absoluta de leucócitos. Após foram realizadas distensões hematológicas, corados com Giemsa May Grunwald e analisadas por hematoscopia.

Análise Estatística: Realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, seguido por teste T ou teste de Mann-whitney. As análises estatísticas foram realizadas no GraphPad para MacOs versão 10.0, considerando $P < 0,05$. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição materna ao ROFA, durante a gestação e a amamentação, promoveu um aumento nos parâmetros leucocitários da prole. Conforme a figura 1, demonstramos um aumento na contagem de leucócitos totais no grupo POL (Fig. 1A), a qual decorre do aumento nas contagens absolutas de neutrófilos, basófilos e monócitos no grupo POL (Fig. 1B, 1C e 1D). Já nas contagens absolutas de eosinófilos e linfócitos não encontramos diferenças entre os grupos experimentais (Fig. 1E e 1F).

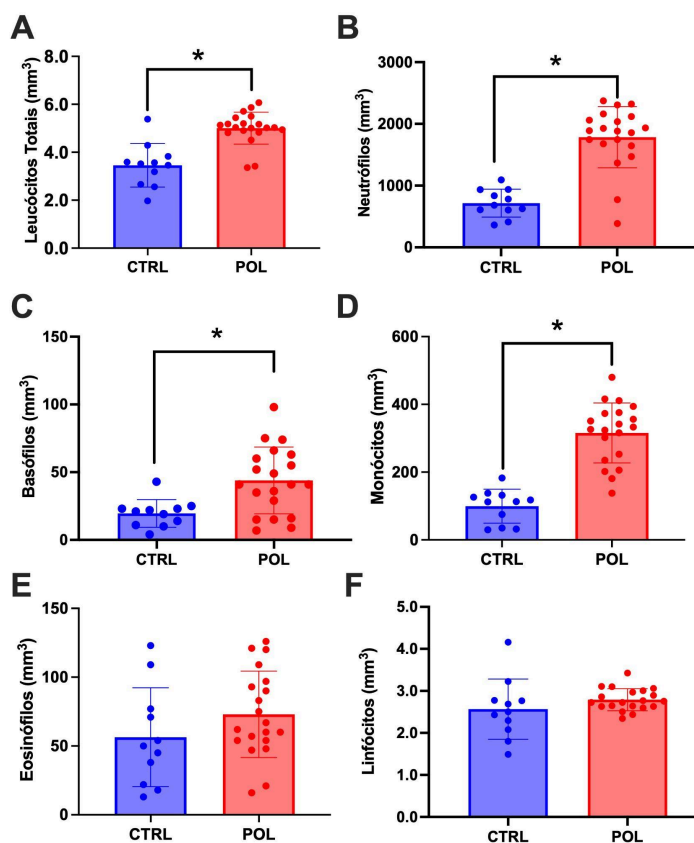




Fig 1. Efeitos na distribuição leucocitária na prole de ratas expostas ao ROFA durante o período gestacional e de lactação.

Legenda: (A) Leucócitos Totais ($P<0,0001$); (B) Neutrófilos ($P<0,0001$); (C) Basófilos ($P=0,0006$); (D) Monócitos ($P<0,0001$); (E) Eosinófilos ($P=0,2132$); (F) Linfócitos ($P=0,3346$). Dados apresentados em média $\pm$ DP. * $P<0.05$. CTRL n=11; POL n=20. (A, B) Teste de Mann-Whitney; (C, D, E, F) Teste T não pareado.

A exposição gestacional e na lactação ao ROFA pode induzir um estado pró-inflamatório, caracterizado pelo aumento da contagem de leucócitos, os quais são sugestivos de uma condição aguda, evidenciada pela leucocitose por neutrofilia. A primeira linha de defesa inflamatória acionada em resposta a condições agudas é a elevação da produção e liberação de neutrófilos na corrente circulatória, uma vez que estas são as primeiras células a migrarem aos focos de lesão tecidual (Yang *et al.*, 2024). Além disso, os leucócitos são preditores confiáveis dos efeitos de exposição à poluição atmosférica induzida a curto prazo (Qiu *et al.* 2023).

Além das alterações no leucograma dos animais da prole, identificamos alterações na razão Neutrófilo/Linfócito e razão Monócito/Linfócito (Fig. 2A e 2B).

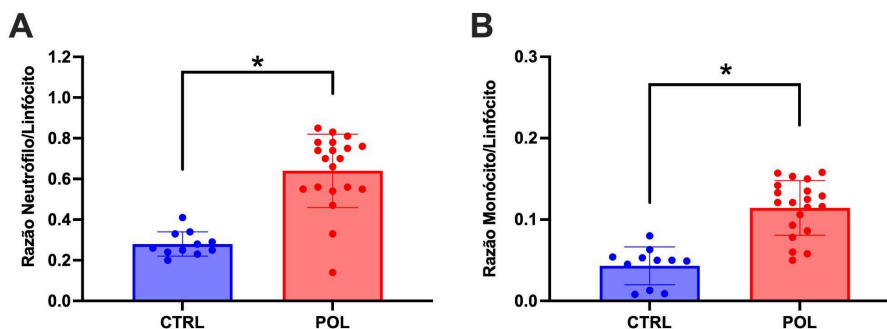


Fig 2. Efeitos na razão leucocitária na prole de ratas expostas ao ROFA durante o período gestacional e de lactação.

Legenda: (A) Razão Neutrófilo/Linfócito ($P<0,0001$). (B) Razão Monócito/Linfócito ($P<0,0001$). Dados apresentados em média $\pm$ DP. * $P<0.05$. CTRL n=11; POL n=20. (A) Teste de Mann-Whitney; (B) Teste T não pareado.

Segundo Yang *et al.* (2024) a relação neutrófilo/linfócito atua como um biomarcador sensível para mudanças nas contagens de neutrófilos e linfócitos, de forma a avaliar a resposta inflamatória aguda (em casos de elevação da RNL) para diversos estímulos (Azzouz, *et al.* 2022). Em nosso experimento, a exposição ao ROFA induziu lesões teciduais as quais promoveram a maior produção e circulação de neutrófilos a qual pode ser identificada pelas elevação da RNL.

Do mesmo modo, a razão monócito/linfócito, mais elevada no grupo exposto à poluição, identifica as respostas do sistema imune em decorrência do processo inflamatório



instalado. A RML também atua como um biomarcador sensível, mas inespecífico do processo inflamatório rapidamente definido (Wang; Guo; Xu, 2022).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A exposição ao ROFA, no período gestacional e amamentação, promoveu um aumento na produção de liberação de leucócitos, em especial aos neutrófilos, basófilos e monócitos, associado aos quadros de inflamação aguda. Ademais, também evidenciamos que a exposição a estes poluentes promoveu a elevação na RNL e RML, demonstrando a ativação da resposta inflamatória e do sistema imune na prole. Nesse sentido, a poluição expõe às gestantes e sua prole a um risco de agravos para o feto tanto durante a gestação, como na lactação e até mesmo, na primeira infância.

Palavras-chave: Material Particulado Fino. Exposição. Gestação. Lactação. Poluição Atmosférica.

Agradecimentos: FAPERGS; CAPES, UNIJUÍ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILERA, Juan *et al.* Air pollution and pregnancy. *Seminars in Perinatology*, v. 47, n. 8, 1 dez. 2023.
- AZZOUZ, Mehjar *et al.* Air pollution and biomarkers of cardiovascular disease and inflammation in the Malmö Diet and Cancer cohort. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, v. 21, n. 1, p. 1–12, 1 dez. 2022.
- DUTTA, Sulagna; SENGUPTA, Pallav. Men and mice: Relating their ages. *Life Sciences*, v. 152, p. 244–248, 1 maio 2016.
- EDUARDO DELFINI CANÇADO, José *et al.* Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica* Clinical repercussions of exposure to atmospheric pollution *J Bras Pneumol. [S.l.: S.n.]*.
- POURSAFA, Parinaz *et al.* Associação da poluição atmosférica com parâmetros hematológicos em crianças e adolescentes. *Jornal de Pediatria*, v. 87, n. 4, p. 350–356, jul. 2011.
- QIU, Weihong *et al.* Short-term impacts of air pollution on the platelet-lymphocyte ratio and neutrophil-lymphocyte ratio among urban adults in China. *Journal of Environmental Sciences (China)*, v. 125, p. 101–111, 1 mar. 2023.
- SENGUPTA, Pallav. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*, v. 4, n. 6, p. 624, jun. 2013.
- VIERO VIANA, Dione; CAMILLA DA SILVA, Thuany; LUIZ PERES, Wagner. EFEITOS NOCIVOS DA POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA À SAÚDE HUMANA*. *[S.l.: S.n.]*.
- WANG, Huan; GUO, Zhen; XU, Yu. Association of monocyte-lymphocyte ratio and proliferative diabetic retinopathy in the U.S. population with type 2 diabetes. *Journal of Translational Medicine*, v. 20, n. 1, p. 1–8, 1 dez. 2022.
- YANG, Yishu *et al.* Short-term exposure to air pollution on peripheral white blood cells and inflammation biomarkers: a cross-sectional study on rural residents. *BMC Public Health*, v. 24, n. 1, p. 1–13, 1 dez. 2024a.