

RESTRIÇÃO PROTÉICO-ENERGÉTICA COMO UM FATOR MODULADOR DA AÇÃO TÓXICA DO ENDOSULFAN EM RATAS PRENHES

FASCINELI, Maria Luiza¹; ALVARENGA, Cláudia Maria Domingues; LEMONICA, Ione Pellegatti²

1. INTRODUÇÃO

Com o grande desenvolvimento do setor agrícola houve um expressivo aumento na produção de alimentos. Entretanto, as deficiências na ingestão de macro e micronutrientes continuam afetando milhões de pessoas nos países em desenvolvimento (CLUGSTON e SMITH, 2002), principalmente mulheres e crianças. A severidade da subnutrição humana pode ser exacerbada por insultos antropogênicos e não antropogênicos. Com o aumento da industrialização e o uso de agroquímicos, muitos agentes estão no ambiente resultando em efeitos adversos à saúde. Além do que, a toxicidade aos xenobióticos pode ser influenciada por uma variedade de fatores fisiológicos, como gravidez e/ou o status nutricional. O endosulfan é um hidrocarboneto clorado do subgrupo dos ciclodienos amplamente utilizado em culturas agrícolas (EXTOXNET, 1996). Absorvido por via oral, dérmica e respiratória, tanto no homem como nos animais, depositando-se no tecido adiposo, fígado e rins, rapidamente metabolizado e eliminado na urina e em dias ou semanas (NAQVI e VAISHNAVI, 1993). Boyd e Dobos (1969) verificaram que a DL50 do endosulfan para ratos com restrição-protéica alimentar (28 dias) ocasionou aumento da toxicidade.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVO

Com a utilização crescente de agroquímicos e a alta incidência de malnutridos nos países em desenvolvimento, o objetivo do presente estudo foi averiguar os efeitos no organismo materno advindos da interação restrição protéico-energética alimentar e exposição ao endosulfan. Devido que, a toxicidade materna pode associar-se a efeitos adversos no desenvolvimento da futura geração.

2. MATERIAL E MÉTODO

Ratas Wistar com 2 meses de idade foram distribuídas em dois grupos experimentais: a) ração *ad libitum* (WN) e b) ração com restrição protéico-calórica (MN, \pm 12g/ração/dia). Aos 3 meses de idade, as fêmeas foram acasaladas com machos adultos e considerou-se dia zero de prenhez quando exibiram espermatozoides e células vaginais queratinizadas no esfregaço vaginal. O endosulfan técnico (6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxatiepino-3-óxido) foi dissolvido em óleo de milho e administrado por gavagem, nas doses de 0, 0,5, 1 e 2 mg/kg/dia, constituindo respectivamente os grupos *ad libitum* (WN0, WN1/2, WN1 e WN2) e com restrição (MN0, MN1/2, MN1 e MN2). O endosulfan foi administrado do 6º ao 20º dia gestacional (DG). Fêmeas prenhes foram monitoradas quanto à presença de toxicidade materna. No 20º dia gestacional, após anestesia do animal com éter-etílico, o sangue materno foi colhido para determinações bioquímicas (kits Vitros - Ortho-Clinical Diagnostics Johnson-Johnson®). De acordo com a distribuição de normalidade os dados foram analisados

por testes paramétricos ou não-paramétricos. O teste de Qui-quadrado/ Fisher foi utilizado para a avaliação de incidências. O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da FMB/ UNESP/ Botucatu-SP, seguindo normas de bem estar animal (ILAR, 1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma dieta adequada em qualidade e quantidade é necessária para o desenvolvimento e a manutenção da integridade física e metabólica do organismo. Quando a ingestão protéica e/ ou calórica estão abaixo das necessidades requeridas pelo organismo ocorre o desenvolvimento de malnutrição protéico-energética (MPE). Em nosso estudo pudemos observar que os primeiros 10 dias de restrição alimentar no grupo MN resultou na diminuição acentuada do peso corpóreo, fato não observado nos demais dias que antecederam o acasalamento e durante o período gestacional. Kerndt et al (1995), observaram em humanos que a perda rápida de peso inicial durante o jejum prolongado é ocasionada primariamente pelo balanço negativo de sódio que é perdido devido ao aumento da formação e excreção de corpos cetônicos. Adicionalmente, no homem ocorrem mecanismos adaptativos visando diminuir ou mesmo impedir o progresso da MPE, através da redução da taxa metabólica e redução da massa muscular (Hoffer, 2001), e este mecanismo adaptativo foi observado nas ratas com restrição alimentar no período de pré-acasalamento. Foram observadas alterações no consumo de ração dos grupos WNs que receberam 1 ou 2 mg/kg/dia da substância-teste (7^o ao 9^o DG) e reduções no consumo do grupo WN2 durante grande parte do período de administração do endossulfan. Isto refletiu no ganho de peso materno final onde diferenças significativas ocorreram entre os grupos WN0 e WN2. A toxicidade materna em estudos de toxicologia do desenvolvimento é caracterizada por diminuição do ganho de peso, diminuição do consumo de ração e água, e também pela ocorrência de sinais clínicos, toxicidade em órgãos e mortalidade (Chahoud et al, 1999). Sinais clínicos de neurotoxicidade foram observados no presente estudo, corroborando com os dados da literatura. Entretanto, em estudos de reavaliação do endossulfan-técnico o NOAEL estabelecido para toxicidade materna para ratas foi de 2mg/kg/dia, com um LOAEL de 6mg/kg/dia, baseado em ocorrência de convulsões tônico-clônicas, aumento da salivação, mortes e diminuição do peso corpóreo e diminuição do consumo de ração (HIARC, 2000). No entanto, a ingestão de 1mg/kg/dia ou 2mg/kg/dia de endossulfan nos grupos com dieta *ad libitum* e a administração de 2mg/kg/dia no grupo MN foram suficientes para ocasionar sinais clínicos de neurotoxicidade nas fêmeas, e reduções no ganho de peso materno e do consumo de ração no grupo WN2. Entretanto, foram observadas reduções na incidência de efeitos neurotóxicos nos grupos submetidos à restrição protéico-calórica na dieta (MN2 e MN1), quando comparados com grupos alimentados *ad libitum* (WN2 e WN1, respectivamente). Reduções no peso absoluto do fígado foram observados em todos os grupos MNs quando comparados com os grupos WNs, estas reduções foram proporcionais às reduções do peso corpóreo, não refletindo em alterações no peso relativo do órgão. A administração de 2mg/kg/dia de endossulfan ocasionou diminuição da concentração de triglicérides no grupo WN2 quando comparado com grupo WN0. A concentração de triglicérides no soro reflete o equilíbrio entre as taxas absorvidas e eliminadas, cuja função primária é a de fornecimento de energia às células. Uma hipolipidemia foi observada nos grupos MNs, em relação à concentração no soro dos parâmetros TRIG e CHOL quando comparados os grupos *ad libitum*, com exceção aos grupos WN2 e MN2 que apresentaram médias semelhantes nestes parâmetros. A diminuição da fração lipídica no soro é o efeito

mais comum ocasionado pela restrição alimentar em roedores, estando correlacionada com a diminuição do ganho de peso corpóreo (Hubert et al., 2000). Estes achados sugerem que o metabolismo lipídico é significativamente modificado pela restrição alimentar ou pela exposição ao endosulfan na concentração de 2mg/kg/dia em fêmeas prenhes com dieta *ad libitum*, através de mecanismos distintos. Vainio et al., (1983), observaram a ação de outros potentes agentes hipotrigliceridêmicos (o fármaco Clofibrato e o herbicida 2,4-D), cujo efeito de redução na concentração de triglicérides no soro correlacionaram com um aumento da atividade da lipase lipoprotéica, proliferação peroxisomal e mitocondrial, com aumento da capacidade da β -oxidação nas mitocôndrias.

4. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que a restrição proteico-energética promove adaptações no organismo materno, visando à manutenção da homeostasia orgânica, modulando a ação tóxica do endosulfan em alguns sistemas orgânicos. Alterações na metabolização da substância-teste e mecanismos adaptativos no sistema nervoso ocasionados pela restrição proteico-calórica estariam relacionados à redução da neurotoxicidade. Entretanto, o endosulfan apresenta-se tóxico independentemente do regime nutricional em que o organismo materno seja submetido, mas, dependente da dose de exposição. O endosulfan administrado à fêmeas com dieta *ad libitum*, durante o período de gestação, apresenta efeito hipolipidêmico, cujo mecanismo de ação deveria ser investigado futuramente.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOYD, E. M.; DOBOS, I. Protein deficiency and tolerated oral doses of endosulfan. *Archives of International Pharmacodynamic & Therapeutic*. v. 178, p. 152-165, 1969.
- CHAHOU I.; LIGENSA, A.; DIETZEL, L.; FAQI, A. S. Correlation between maternal toxicity and embryo/ fetal effects. *Reproductive Toxicology*. v. 13, p. 375-381, 1999.
- CLUGSTON, G. A.; SMITH, T. E. Global nutrition problems and novel foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. v. 11, p. 100-111, 2002.
- Extoxnet (Extension Toxicology Network - Pesticide Information Profiles). 1996. Endosulfan. [Disponível em: http://extoxnet.orst.edu/pips/endosulf.htm](http://extoxnet.orst.edu/pips/endosulf.htm) (17/06/2006).
- HIARC Health Effects Division's Hazard Identification Assessment Review Committee. (2000) Endosulfan: Re-evaluation of toxicology selection for dermal and inhalation risk assessments – Report of the Hazard Identification Assessment Review Committee. HED DOC. NO. 014024, 1-23.
- HOFFER, L. J. Clinical nutrition: 1. Protein-energy malnutrition in the inpatient. *Can. Med. Ass. J.* v. 165, p. 1345-1349, 2001.
- HUBERT, M. F.; LAROQUE, P.; GILLET, J. P.; KEENAN, K. P. The effects of diet, *ad libitum* feeding, and moderate and severe dietary restriction on body weight, survival, clinical pathology parameters, and cause of death in control Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences*. v. 58, p. 195-207, 2000.
- ILAR Institute of Laboratory Animal Resources. (1996) Guideline for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academic Press, Washington 1 – 162.
- KERNDT, P. R.; NAUGHTON, J. L.; DRISCOLL, C. E.; LOXTERKAMP, D. A. Fasting: The history, Pathophysiology and complications. *The Western Journal of Medicine*. v. 137, p. 379-399, 1995.

NAQVI, S. M.; VAISHNAVI, S. Bioaccumulative potencial and toxicity of endosulfan insecticide to non-target animals. *Comparative Biochemistry and Physiology*. v. 105, p. 347-361, 1993.

VAINIO, H.; LINNAINMAA, K.; KAHONEN, M.; NICKEL, J.; HIETANEM, E.; MARNIEMI, J.; PELTONEN, P. Hypolipidemia and peroxisome proliferation induced by phenoxyacetic acid herbicides in rats. *Bioch Pharm*. v. 32, p. 2775-2779, 1983.

FONTE FINACIADORA: CNPq/ Johnson-Johnson Company

Parte do projeto (pós-graduação) desenvolvido na Faculdade de Medicina de Botucatu – Departamento de Patologia – Universidade Estadual Paulista/ UNESP*.

¹ fascineli@yahoo.com.br (orientada – bolsista CNPq)*

² ionelemonica@uol.com.br (orientadora)*