

## ANÁLISE DA HISTOPATOLOGIA DOS TESTÍCULOS DE *Chrysomus ruficapillus* EXPOSTOS AO CHUMBO

**ALESSANDRA CARDOSO DA SILVA<sup>1</sup>; DANUSA LEIDENS<sup>1</sup>; CARLOS EDUARDO ROSA<sup>1</sup>; RODRIGO DESSESARDS JARDIM<sup>1</sup>; CARINE DAHL CORCINI<sup>2</sup>; ANTONIO SERGIO VARELA JUNIOR<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande - FURG ([alecardososilva@hotmail.com](mailto:alecardososilva@hotmail.com); [danusaleidens@gmail.com](mailto:danusaleidens@gmail.com); [ninovski@hotmail.com](mailto:ninovski@hotmail.com); [aleerod@terra.com.br](mailto:aleerod@terra.com.br); [varelajras@hotmail.com](mailto:varelajras@hotmail.com))

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – UFPEL ([corcincd@gmail.com](mailto:corcincd@gmail.com))

### 1. INTRODUÇÃO

O Chumbo (Pb) é um metal não essencial, tóxico, encontrado em todos os compartimentos da biosfera e em diversas formas químicas. Suas principais fontes naturais são as emissões vulcânicas e o intemperismo. Entre as fontes antropogênicas encontram-se as fábricas de baterias de automóveis, as ligas metálicas, os pigmentos de tinta, munição, mineração, fundição e a gasolina (Fisher et al. 2006), constituindo-se assim um dos grandes problemas em termos de poluição atmosférica.

Vanz et al. (2003), analisando o chumbo proveniente das precipitações sólidas atmosféricas constataram concentrações altas encontravam-se nas áreas próximas a cidade do Rio Grande e na região estuarina ao redor. Isto ocorre devido a poeira do ar da cidade conter chumbo que pode variar de 4,0 à 1.165,0 mg.m<sup>3</sup>. A maior concentração da deposição atmosférica seca, nas margens do estuário da área industrial da cidade, tem como fontes a área de permanência de pescadores (devido às chumbadas), a parte da cidade antiga (tintas a base de chumbo) e a zona industrial (deposição atmosférica) (Mirlean et al. 2005).

Estudos mostraram os efeitos da exposição por chumbo aguda e crônica associados a danos graves neurocomportamentais, hematológicos, nefrotóxicos e reprodutivos (Telišman et al. 2007) em seres humanos e outros animais. No modelo animal, uma série de estudos tem avaliado o impacto da exposição ao chumbo com consequências nas características morfológicas, bioquímicas e nos hormônios reprodutivos.

O *Chrysomus ruficapillus* é uma espécie de ave silvestre amplamente distribuída na América do Sul. Esta espécie está presente em uma variedade de habitats, incluindo canaviais, valas na estrada, estações de tratamento de esgoto, pequenas plantações de eucaliptos e campos agrícolas (Jaramillo & Burke 1999). Pode ser encontrada em grandes bandos durante praticamente todo o ano. Durante a reprodução, entre o período de agosto a março, separa-se em pequenos grupos, isso ocorre em banhados naturais ou nas lavouras de arroz (Fallavena 1988).

Apesar do conhecimento do uso de pesticidas contendo chumbo, da fabricação de tintas a base de chumbo durante o século XX e da ampla cultura de caça que o Rio Grande do Sul possui, são escassos os estudos sobre os efeitos do chumbo associado às aves silvestres que frequentam ambientes expostos à contaminação com chumbo. Dessa forma, a proposta do estudo é entender os efeitos do chumbo sobre o sistema reprodutivo de aves usando o Garibaldi como modelo.

### 2. METODOLOGIA

Experimento realizado no presente estudo foi aprovado pelo Comitê da Universidade Federal do Rio Grande (licença # 23116.006225/2011-39) Ética.

Machos adultos de aves *C. ruficapillus* (massa corporal:  $36,1 \pm 2,79$  g,  $n = 50$ ) foram capturados na natureza durante o período reprodutivo (Outubro/2012), utilizando redes de neblina (SISBIO, capturar licença # 30228-1). As aves foram mantidas em gaiolas (2 aves/m<sup>2</sup>), com piso coberto evitando a contaminação do meio ambiente. Gaiolas foram fornecidas com arbustos e árvores, com sombra, espelho d'água e alimentador seguindo os critérios estabelecidos pela Instrução Normativa 04/2002 emitida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA). Alimentos e água foram renovados todos os dias durante todo o período experimental (7 dias).

- **Procedimentos laboratoriais**

As aves foram pesadas e divididas aleatoriamente em três grupos: (1) aves tratadas com uma única injeção intraperitoneal (1 ml) de solução salina (0,9% de NaCl) (grupo de controle,  $n = 12$ ), (2) aves tratadas com uma única injeção intraperitoneal (1 ml) de solução salina (NaCl 0,9%) que continha acetato de chumbo (50 mg grupo Pb / kg,  $n = 15$ ), e (3) as aves tratadas com uma única injeção intraperitoneal (1 ml) de solução salina (NaCl 0,9%) que continha acetato de chumbo (Pb 100 mg / kg grupo,  $n = 18$ ). Após 7 dias de exposição as aves foram eutanasiadas.

- **A análise histológica**

Por laparotomia exploratória foram retirados os testículos que foram fixados em paraformaldeído a 4% durante 2 h. Em seguida, foram processados num processador automatizado de vácuo (ASP 200, Leica, Alemanha) de acordo com técnicas histológicas padrão. As amostras foram impregnadas e embebidos em ParaplastXtra® (Sigma, St. Louis, MO, EUA).

Lâminas com cortes de tecido (espessura de 7 mm) foram coradas com hematoxilina e eosina. A análise histológica foi realizada sob microscópio de campo claro de luz BX51 equipado com uma câmera DP73 (Olympus, Japão).

Para todas as amostras, alterações histológicas foram quantificadas através da análise cega. A abundância ou ausência de diferentes tipos de células do epitélio seminífero foram marcadas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Moderado a atrofia testicular grave foi observada em aves injetadas com 50 mg Pb / kg (67% atrofia ou com 100 mg Pb / kg (89% atrofia). Além disso, foram observados vacúolos nas aves expostas ao Pb (50 mg / kg: foi observada 67%).

Moderado a diminuição acentuada do número de células germinais foi observada. Resultados para aves injetadas com 50 e 100 mg Pb / kg foi de 25 e 44% para espermatogônias, 83 e 77% para os espermatócitos, 75 e 100% para os espermatídeos, 83 e 100% para os espermatozóides, e 16 e 33% para as células de Leydig (Fig. 1).

Depois de atingir o sangue o Pb atravessou a barreira sangue-testículo e ficou acumulado no testículo das aves. Novamente, observamos resultados semelhantes com ambas doses de Pb testadas (50 e 100 mg Pb / kg). Estes

resultados indicam que o nível de Pb nos tecidos (sangue e testículo) já foi saturado com a dose mais baixa aplicada.

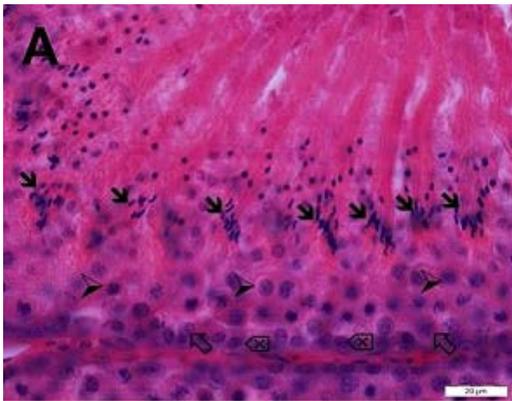


Fig. 1A Testículo de aves de controle mostrando organização normal dos túbulos seminíferos e todas as fases de células de Leydig e de espermatogênese (HE, 100x).

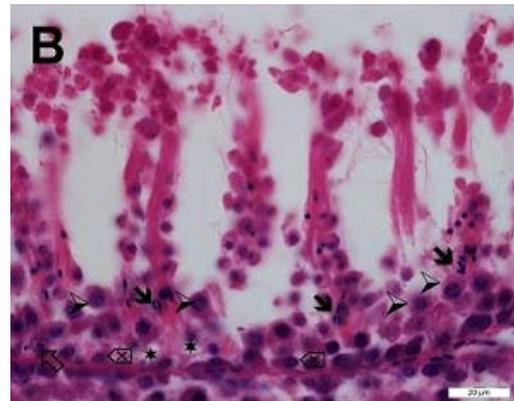


Fig. 1B Testículo de aves do grupo de 50 mg Pb / kg mostrando atrofia grave, de baixa densidade de células de esperma e vacuolização (HE, 100x).

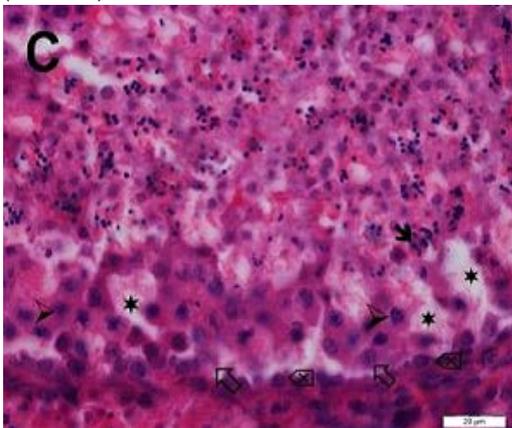


Fig. 1C Testículo de aves do grupo de 100 mg Pb / kg mostrando desorganização total de túbulos seminíferos com muitos vacúolos, baixa densidade de células de esperma, desorganização celular e poucas células de Leydig (HE, 100x).

- ◻ - células de Leydig e \*
- ⊗ - espermatogônias, ◀ espermatócitos,
- ▶ espermatozóides

#### 4. CONCLUSÕES

Concluiu-se que os dados relatados no presente estudo mostram claramente que o Pb pode acumular-se em testículo de aves *C. ruficapillus* após uma única injeção intraperitoneal de acetato de Pb e induzir toxicidade. Estes efeitos indicam que o Pb pode afetar negativamente a função testicular no macho adulto da ave *C. ruficapillus*, sendo uma ameaça potencial para a reprodução dessas aves selvagens.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Fallavena M.A.B. Alguns dados sobre a reprodução do garibaldi, *Agelaius ruficapillus* (Icteridae, Aves) em lavouras de arroz no Rio Grande do Sul. **Rev. Bras. Zool.** v.4, n.4, p.307-317, 1988.

Fisher I.J., Pain D.J., Thoma V.G. A review of lead poisoning from ammunition sources in terrestrial birds. **Biol. Conserv**, v. 131, p.421-432, 2006

Jaramillo A., Burke P. **New World blackbirds: The icterids**. Christopher Helm, London. p.431-432, 1999.

Mirlean N., Robinson D., Kawashita K., Vignol M. L., Conceição R., Chemale F. Identification of local sources of lead in atmospheric deposits in an urban area in Southern Brazil using stable lead isotope ratios. **Atmos. Environ.** v.39, p. 6204-6212, 2005.

Telišman S., Colak B., Pizent A., Jurasović J., Cvitković P. Reproductive toxicity of low-level lead exposure in men. **Environ Res**, v.105, p. 256-266, 2007.

Vanz A., Baisch P., Mirlean N. Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado através de uma abordagem geoquímica. **Quím. Nova**. v.26, n.1, p.25-31, 2003.