

Efeitos do *malathion* sobre parâmetros reprodutivos de machos, fêmeas e sua prole

Effects of *malathion* on reproductive parameters of males, females and their offspring

DOI:10.34117/bjdv7n7-248

Recebimento dos originais: 10/06/2021

Aceitação para publicação: 10/07/2021

Bruna Eduarda Pontes Furtado

Graduanda de Enfermagem

Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM

Praça Manoel Terra, 330 – Abadia – Uberaba – MG

E-mail: brunafurtadosd@hotmail.com

Murilo Augusto Duarte Vieira

Mestrando em Ciências – Fisiologia

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP

Campus USP – Prédio Central - Ribeirão Preto – SP

E-mail: muriloadvieira@usp.br

Lucas de Souza Ortolan

Graduando em Ciências Biológicas

Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM

Av. Randolpho Borges Júnior, 1400 - Univerdecidade,

E-mail: lucas_ortolan@hotmail.com

Simone Acrani

Doutora em Ciências – Fisiologia - FMRP-USP

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Praça Manoel Terra, 330 – Abadia - Uberaba – MG

RESUMO

O *malathion* é um dos mais comuns organofosforados que compõe os inseticidas utilizados para o controle de doenças endêmicas como a Dengue e o Zika vírus. O presente trabalho tem o objetivo de avaliar os efeitos do *malathion* sobre o comportamento sexual e alguns parâmetros reprodutivos de ratos Wistar machos e fêmeas e sua prole. Os animais dos grupos tratados receberam ração enriquecida com 200mg/kg de *malathion*. O comportamento sexual foi quantificado por meio da análise da quantidade e latência de montas, intromissões e ejaculações. O peso absoluto e relativo dos órgãos reprodutivos dos machos foram avaliados. A fertilidade (quantidade de corpos lúteos, sítios de implantação, reabsorções) e o desenvolvimento da prole das fêmeas foram analisados. Para obtenção dos resultados de comportamento sexual e fertilidade, os animais foram acasalados com animais controle e posteriormente eutanasiados por aplicação suprafisiológica de anestésico. Os machos tratados com *malathion* apresentaram uma redução de 48% no peso da cauda do epididimo e tendência ao aumento de aproximadamente 1,9 vezes na latência para a realização da primeira intromissão e 2,4 vezes na quantidade de montas realizadas. As fêmeas tratadas

apresentaram maior propensão ao aumento das perdas pós implantação, e menor taxa de viabilidade fetal. No entanto, não houve diferenças no desenvolvimento da prole entre os dois grupos experimentais. Podemos inferir que o *malathion* pode influenciar negativamente nos parâmetros reprodutivos e no período gestacional de ratos Wistar principalmente no desenvolvimento embrionário pós implantação e na viabilidade fetal, e que apesar de contribuir para o controle de doenças como a Dengue, a exposição a esse inseticida pode ocasionar outros problemas influenciando inclusive na reprodução.

Palavras-chave: *Malathion*, parâmetros reprodutivos, fertilidade.

ABSTRACT

Malathion is one of the most common organophosphates that make up the insecticides used to control endemic diseases such as Dengue and Zika virus. The present work aims to evaluate the effects of malathion on sexual behavior and some reproductive parameters of male and female Wistar rats and their offspring. The animals in the treated groups received feed enriched with 200mg/kg of malathion. Sexual behavior was quantified by analyzing the quantity and latency of mounts, intrusions and ejaculations. The absolute and relative weight of the male reproductive organs were evaluated. Fertility (number of corpora lutea, implantation sites, resorptions) and offspring development of females were analyzed. To obtain the results of sexual behavior and fertility, the animals were mated with control animals and later euthanized by supraphysiological application of anesthetic. Males treated with malathion showed a 48% reduction in the weight of the epididymis tail and a tendency towards an increase of approximately 1.9 times in latency to perform the first intrusion and 2.4 times in the amount of mounts. Treated females showed greater propensity to increase post-implantation losses, and lower fetal viability rate. However, there were no differences in offspring development between the two experimental groups. We can infer that malathion can negatively influence the reproductive parameters and gestational period of Wistar rats, especially in the post-implantation embryonic development and fetal viability, and that despite contributing to the control of diseases such as Dengue, exposure to this insecticide can cause other problems influencing including reproduction.

Keywords: *malathion*, reproductive parameters, fertility

1 INTRODUÇÃO

O termo organofosforado é utilizado para os inseticidas que apresentam, em sua composição, o elemento químico fósforo (NASCIMENTO; MELNYK, 2016). Nesse grupo, os inseticidas são classificados em três grupos: os alifáticos (no qual encontramos o *malathion*, diclorvos, dicrotopho, etc); os derivados de fenil (etil e metil paration, fenitrothion, etc.) e os heterocíclicos (clorpirifos, clopirifos-metil, etc). Os organofosforados são os mais utilizados por apresentar algumas vantagens quando comparados com os organoclorados, tais como sua biodegradabilidade e por não se acumular nos tecidos (OLIVEIRA; CALEFFE; CONTE, 2017).

O *malathion (MLT)* é um inseticida encontrado em produtos agrotóxicos, para uso industrial e de uso em ambientes domésticos. É utilizado para controlar mosquitos, dentre eles o *Aedes aegypti*, transmissor da doença da Dengue, Zika e Chikungunya. Nos programas de controle ao mosquito conduzidos pelas autoridades estaduais ou locais, é aplicado no ambiente por meio de pulverizadores que são montados em um carro (Fumacê) (SILVA et al., 2020).

Porém, é necessário que se haja uma renovação periódica de sua aplicação, e além disso, os representantes do grupo dos organofosforados são mais tóxicos para os vertebrados do que os organoclorados, mesmo que utilizados em menor quantidade (DE OLIVEIRA; CALEFFE; CONTE, 2017).

Os organofosforados não permanecem muito tempo no ambiente, pois sendo um composto biodegradável, se degrada por hidrólise na planta/solo, dependendo de fatores como o clima, umidade, propriedades físico químicas, entre outras (BADII; VARELA, 2008). Entretanto, o MLT é utilizado em grandes concentrações e pode se misturar na água, o que faz com que quando pulverizado possa atingir ambientes aquáticos, contaminar a água e intoxicar as espécies aquáticas e os seres humanos (GUILHERMINO et al., 2016; MELLO et al., 2021).

As pessoas estão expostas ao MLT através da forma ocupacional ou ambiental, sendo a exposição ocupacional aos agricultores e trabalhadores de indústrias químicas, e a exposição ambiental devido a seu acúmulo no ar, solo e água. O maior risco de exposição se dá às pessoas que trabalham diretamente com esse produto químico, pois muitas das vezes não utilizam equipamentos de segurança individual (VINHAL; SOARES, 2018).

Assim que uma pessoa tem contato com MLT, o produto vai para a circulação sanguínea e uma vez presente na corrente sanguínea, ele pode ir para vários tecidos e órgãos. A maior parte dele é degradado no fígado em outras substâncias chamada de metabólitos e a maioria desses metabólitos não são acumulados no corpo, sendo eliminados pela urina e pelas fezes (TORIANI, 2017). O MLT e os demais inseticidas do grupo dos organofosforados inibem permanentemente a enzima acetilcolinesterase, cuja função é degradar o neurotransmissor acetilcolina, causando seu acúmulo e consequentemente, síndrome colinérgica (SANTOS et al. 2015; HUNGARO et al., 2015;).

A exposição a grandes quantidades de MLT pode provocar dificuldades na respiração, vômitos, dor abdominal, diarreia, lacrimejamento, salivação, sudorese,

bradicardia, convulsão, fraqueza muscular, paralisia e em casos mais graves, pode ser letal (BADR, 2020). Além disso, os organofosforados podem causar pancreatite, doenças hepáticas, falência renal e problemas de fertilidade e reprodução, tanto em humanos como em animais (GUPTA et al., 2019).

Os efeitos no sistema endócrino de um grande número de produtos químicos sintéticos têm sido apontados como uma das possíveis causas de alterações no sistema reprodutivo, como a má formação dos órgãos reprodutivos e baixa fertilidade. Há crescente evidência de que a exposição gestacional a pesticidas, mesmo em baixas concentrações, pode levar a danos no sistema reprodutivo. Vários estudos, mostraram uma maior incidência de criptoquirdia e hipospadia em filhos de mulheres que trabalham como jardineiras ou que vivem em locais onde os pesticidas são utilizados intensivamente (BOSSI et al., 2013).

A exposição ao MLT possui influência sobre aspectos reprodutivos em modelos experimentais. Em ratos, concomitantemente com o aumento da dosagem do inseticida, há diminuição dos testículos e do peso corporal, assim como também influencia no número e na motilidade de espermatozoides, sobre níveis hormonais e na espermatogênese (GENG et al., 2015). Em ratas, seu efeito sobre o tecido ovariano inclui hemorragia, edema, processos inflamatórios, degenerações foliculares e apoptose celular, fatores que comprometem a concepção e desenvolvimento fetal (BHARDWAJ et al., 2018; OZSOY et al., 2016).

O MLT e/ou seus produtos de degradação podem ser transferidos a partir da mãe grávida para o feto em desenvolvimento. Sugere-se que quando há a exposição gestacional aos organofosforados, eles podem levar o feto à restrição do crescimento, diminuição do peso ao nascer e dificuldade de ganho de peso durante o desenvolvimento (BOSSI et al., 2013; BRADMAN et al., 2003; ESKENAZI; BRADMAN; CASTORINA, 1999).

Sabendo que estamos em contato diário com esse inseticida e que poucos estudos foram realizados utilizando modelos experimentais, esse trabalho tem o intuito de averiguar os efeitos do MLT sobre alguns parâmetros reprodutivos de machos e sobre o período gestacional de fêmeas de *Rattus norvegicus* Wistar em relação à fertilidade e ao desenvolvimento da prole.

Desse modo, determinar os efeitos do MLT sobre a biologia reprodutiva de modelos animais é o primeiro passo para se questionar o uso intensivo de inseticidas nos ambientes urbanos, bem como a proposição de mecanismos que permitam monitorar esse

uso, por meio de espécies bioindicadoras e sistemas bioquímicos *in-vivo*, constituem ferramentas importantes para se entender os efeitos de organofosforados em áreas urbanas, conforme fora proposto neste projeto.

2 METODOLOGIA

2.1 ANIMAIS

Neste estudo foram utilizados ratos da linhagem Wistar, mantidos em condições controladas de luminosidade (12h de luz: 12h de escuro) e temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$). Os animais foram alimentados com dieta padronizada da marca Nuvilab à vontade e receberam água *ad libitum* durante todo o período experimental. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – UFTM com o protocolo número 298/2014.

2.2 PROTOCOLO DE TRATAMENTO COM *MALATHION* EM MACHOS

Para esse protocolo de análise, foram constituídos dois grupos experimentais: animais não tratados com *malathion* ou controle (n= 6) e animais tratados com *malathion* (n=5), que receberam diariamente 200 mg de MLT por Kg de peso corporal, acrescidas na ração durante 65 dias.

Para análise do comportamento sexual, os animais foram mantidos em uma sala com ciclo invertido de luminosidade (fase escura das 10:00 às 22:00 h), desde o desmame. De modo que a observação e análise foram realizadas no período da tarde (a partir das 13:00 h).

Para obtenção dos resultados, os animais foram colocados individualmente em caixa de madeira (56 x 35 x 31 cm), com parte frontal de vidro, tampa móvel na parte superior e pequenas aberturas laterais para ventilação) por 5 minutos antes da avaliação dos parâmetros do comportamento sexual, para adaptação ao novo ambiente. Em seguida uma fêmea em estro natural, determinado por lavado vaginal na manhã do mesmo dia e sem nenhum tratamento prévio era introduzida na caixa.

Os parâmetros quantificados para análise do comportamento sexual foram: número e latência de montas, intromissões e ejaculações. Dois observadores registraram simultaneamente os parâmetros do comportamento sexual do rato macho durante 30 minutos, sob iluminação de lâmpada vermelha de 40 Watts. Para confirmar os resultados obtidos toda a manifestação do comportamento foi filmada.

No dia seguinte ao da realização do teste de comportamento sexual, os machos foram eutanasiados por aplicação suprafisiológica de anestésico. Os órgãos e glândulas reprodutoras retirados e pesados.

2.3 PROTOCOLO DE TRATAMENTO COM *MALATHION* EM FÊMEAS

Para o protocolo de análise da fertilidade em fêmeas foi acompanhado o ciclo estral de ratas Wistar durante 5 dias. Após o acompanhamento, as fêmeas foram divididas em quatro caixas e em cada uma delas foi colocado um macho, sem tratamento algum, para que o acasalamento tivesse início.

Na manhã seguinte o material vaginal foi novamente coletado para que a presença de espermatozoides fosse confirmada e este era considerado o dia 0 da gestação. As fêmeas prenhes foram separadas aleatoriamente e agrupadas em: fêmeas tratadas com MLT (n=8) e fêmeas controle (n=7).

A partir do 3º dia de gestação as fêmeas que constituíram o grupo tratado começaram a receber ração acrescida de MLT na dosagem de 200 mg/Kg. No 20º dia de prenhes, quatro (4) animais do grupo controle e cinco (5) animais do grupo tratado foram submetidas a cirurgia cesariana, para obtenção dos parâmetros referentes a fertilidade. Enquanto três animais (3) controle e dois (2) animais tratados realizaram o nascimento normal a termo, com objetivo de avaliar o desenvolvimento da prole.

Para o procedimento cirúrgico da cesárea, as fêmeas foram eutanasiadas por aplicação intraperitoneal de Thiopentax numa dosagem suprafisiológica. Após a eutanásia, o útero com os filhotes foi retirado e pesado, em seguida foi incisado longitudinalmente com tesoura, em toda sua extensão. Os fetos foram retirados, separados da placenta e observados quanto à vitalidade e à presença de malformações macroscópicas externas. Os fetos e placentas foram pesados. Após a retirada dos fetos, os cornos uterinos foram dissecados e por observação direta, anotada a presença de reabsorções precoces e tardias. Os ovários foram removidos e o número de corpos lúteos determinados. Posteriormente, com os dados coletados foram determinadas:

- Taxa de gestação: Fêmeas prenhes / Inseminadas x 100
- Taxa de eficiência de implantação: Implantações / Corpos lúteos x 100
- Taxa de reabsorção: Reabsorções / Implantações x 100
- Taxa de perda pré-implantação: Corpos lúteos - Implantações / Corpos lúteos x 100
- Taxa de perda pós-implantação: Implantações - Fetos vivos / Implantações x 100
- Taxa de viabilidade fetal: Fetos vivos / No total de implantes x 100

O desenvolvimento pós-natal da prole das fêmeas paridas foi observado desde o dia do nascimento (dia zero). As ninhadas foram pesadas diariamente até o dia 36 pós-natal. Cada filhote foi avaliado quanto ao desenvolvimento físico geral, no qual foi observado o dia do aparecimento da pelugem, o descolamento do pavilhão auricular, o desenvolvimento dos pelos, a abertura dos olhos e nos machos foi observado também o dia da descida dos testículos à bolsa escrotal e a separação prepucial.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações entre os resultados dos grupos tratados e respectivos controles foram realizadas pelo teste estatístico não-paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado. Valores são considerados significativos quando $p < 0,05$ (GMC Basic Software, versão 7.4).

3 RESULTADOS

3.1 MACHOS

O peso dos órgãos reprodutores dos machos (tabela 1) não apresentou diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o tratado com MLT. No entanto, uma tendência de diminuição de aproximadamente 48% no peso absoluto da cauda do epidídimo dos animais tratados foi observada.

Tabela 1. Peso absoluto e relativo dos órgãos reprodutores de ratos machos adultos dos grupos controle e tratado com *malathion* durante 65 dias.

Peso absoluto e relativo dos órgãos reprodutores		
Peso absoluto (g)	Controle (n=6)	<i>Malathion</i> (n=5)
Testículo	1,11 ± 0,19	1,03 ± 0,08
Vesícula Seminal	0,55 ± 0,06	0,45 ± 0,06
Próstata	0,29 ± 0,04	0,30 ± 0,08
Cauda do Epidídimo	0,27 ± 0,04	0,13 ± 0,01
Peso relativo (g/100g peso corporal)		
Testículo	0,23 ± 0,05	0,20 ± 0,02
Vesícula Seminal	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,02
Próstata	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Cauda do Epidídimo	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01

Valores expressos em média ± EPM.

Em relação a análise do comportamento sexual de machos (tabela 2), os animais tratados com MLT apresentaram tendências ao aumento de aproximadamente 1,9 vezes na latência para a realização da primeira intromissão e 2,4 vezes na quantidade de montas. A quantidade média de ejaculações realizadas pelos animais tratados teve uma tendência

ao aumento de 23% em relação ao grupo controle. Os demais parâmetros não apresentaram diferenças entre os dois grupos analisados.

Tabela 2. Latência e Número total das várias etapas do comportamento sexual de ratos machos adultos dos grupos controle e tratado com *malathion* durante 65 dias.

Comportamento Sexual		
Latência (seg)	Controle (n=6)	Malathion (n=5)
1ª monta	23,33 ± 7,77	18,60 ± 4,98
1ª intromissão	17,20 ± 1,11	33,60 ± 12,91
1ª ejaculação	839,67 ± 85,74	781,60 ± 60,54
1ª monta pós-ejaculação	967,50 ± 105,28	898,00 ± 68,31
1ª intromissão pós-ejaculação	967,50 ± 105,28	898,00 ± 68,31
Quantidade total		
montas incompletas	0,83 ± 0,65	2,0 ± 1,26
intromissões	21,33 ± 5,71	20,40 ± 2,73
montas pós-ejaculação	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
intromissões pós-ejaculação	31,33 ± 4,12	26,60 ± 5,55
ejaculações	6,67 ± 1,36	8,20 ± 1,50

Valores expressos em média ± EPM.

3.2 FÊMEAS

A análise da evolução do peso corporal das fêmeas prenhes nos dois grupos não evidenciou diferenças estatisticamente significantes entre eles, como mostra a Tabela 3. As fêmeas controles apresentaram um ganho de peso corporal de 30,3% em relação ao peso inicial, enquanto os animais tratados tiveram um ganho de 32%.

Tabela 3. Peso corporal inicial e final das fêmeas prenhes que receberam *malathion* a partir do 3º dia de gestação. Os resultados são apresentados como média ± EPM.

Dias de gestação	Peso corporal (g)	
	Controle (n=7)	Malathion (n=8)
7	236,67 ± 14,25	308,33 ± 6,01
20	250,00 ± 3,53	330,00 ± 7,90

Ao analisarmos os resultados do acompanhamento do ciclo estral (Quadro 1), os animais apresentaram uma duração média de 4 a 5 dias para alcançar a fase estro durante o ciclo reprodutor, corroborando com os padrões normais descritos na literatura.

Quadro 1. Acompanhamento do ciclo estral de fêmeas nulíparas do gênero Wistar. As letras representam as fases do ciclo estral: M – Metaestro; D – Diestro; P – Poestro; E – Estro. As barras marcadas na cor cinza representam a presença de espermatozóides no esfregaço no respectivo dia.

fêmeas/dias	Fase do ciclo estral												
	1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	15	16	17
I	M	D	D	P	E	P	■						
II	D	P	E	M	D	E	■						
III	M	M	D	P	E	D	P	P	M	D	D	P	■
IV	M	D	P	E	M	■							
V	D	P	P	E	M	M	D	P	■				
VI	D	P	E	M	D	M	D	P	■				

VII	M	D	P	E	M	M	D	P				
VIII	M	M	D	P	E							
IX	E	M	D	P	E							
X	M	D	P	P	E							
XI	P	E	M	D	P	M	P	P				
XII	M	M	D	P	E	M	P	M	D	P	P	
XIII	M	M	D	P	E	P	M	M	D	P		
XIV	M	D	P	E	M	M	M	M	D	P		
XV	E	E	M	D	P							

A análise dos padrões reprodutivos mostrou que a maioria das fêmeas (n=10), aceitaram o acasalamento já na primeira noite, de modo que foi confirmando através da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal da manhã seguinte. Já as quatro fêmeas restantes aceitaram o macho no acasalamento no 2º ciclo e uma fêmea aceitou a cópula na fase proestro, sendo essa a fase antecedente ao estro.

Para análise da fertilidade quatro animais do grupo controle foram submetidos a cesariana, enquanto 3 animais tiveram gestação a termo e os parâmetros referentes ao desenvolvimento da prole analisados. Uma fêmea desse grupo não se tornou prenhe e, ao exame laparoscópico apresentou útero virgem e ausência de corpos lúteos gravídicos. Das 8 fêmeas que compõe o grupo tratado com MLT, 4 foram submetidas a cesariana e 4 realizaram nascimento a termo. Desse total, 2 fêmeas não ficaram prenhes, e ao exame laparoscópico apresentaram útero virgem e ausência de corpos lúteos gravídicos. Além disso, no momento da realização da laparotomia uma das fêmeas tratadas apresentou todos os fetos mortos.

As fêmeas que receberam a ração com MLT a partir do 3º dia de gestação não apresentaram alterações no número de corpos lúteos e sítios de implantação. Além disso, não foi constatado perdas pré-implantação em nenhum dos grupos, no entanto, as fêmeas tratadas apresentaram uma tendência a diminuição do número de fetos vivos e aumento do número de perdas pós implantação quando comparadas aos animais controles (Tabelas 4).

Através do cálculo dos índices de fertilidade, pudemos observar que as fêmeas tratadas com MLT a partir do 3º dia de gestação e acasaladas com os machos controle apresentaram uma tendência à diminuição nas taxas de gestação e viabilidade fetal. (Tabela 4).

Tabela 4. Fertilidade (número absoluto dos parâmetros e taxas calculadas) das fêmeas que ingeriram *malathion* a partir do 3º dia de gestação e controles acasaladas com machos controle.

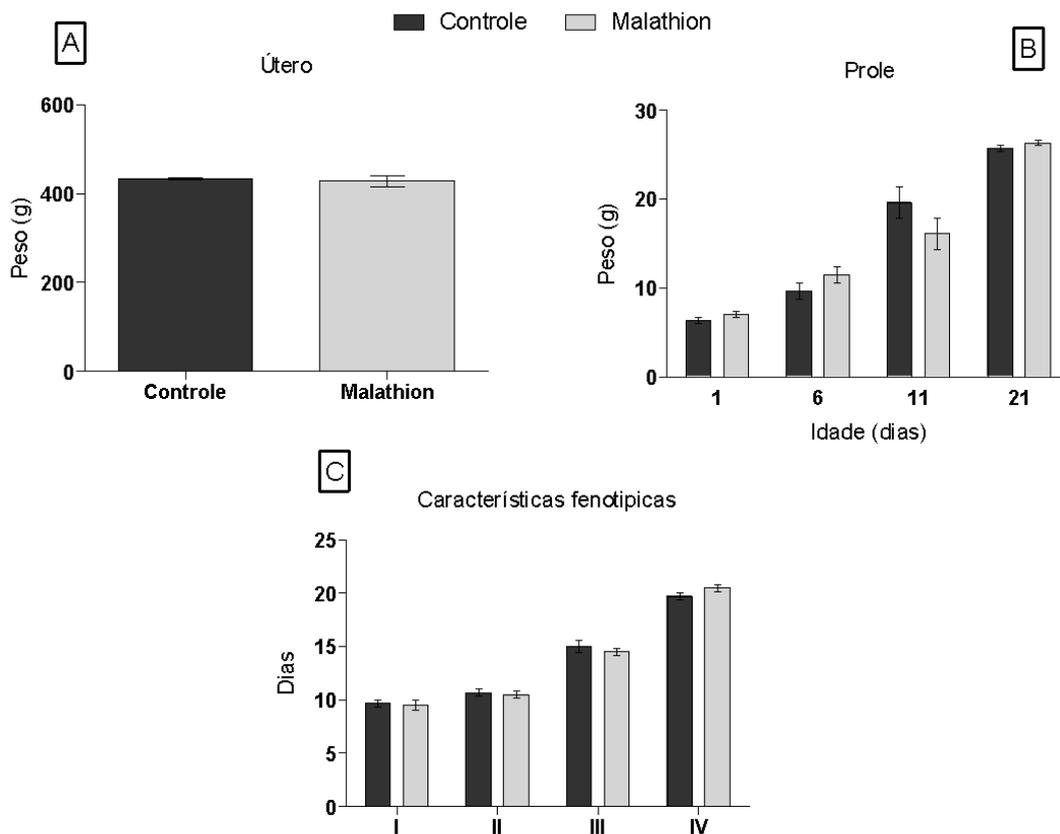
Parâmetros	Controle	<i>Malathion</i>
Corpos lúteos (número)	13,0 ± 0,58	14,0 ± 1,08

Sítios de Implantação (número)	13,76 ± 0,88	14,0 ± 1,08
Fetos vivos (número)	12,0 ± 1,53	8,5 ± 3,01
Perdas pré-implantação (número)	1,33 ± 0,33	2,0 ± 0,92
Taxa de gestação (%)	85,7	75,0
Taxa de eficiência de implantação (%)	100	100
Taxa de reabsorção (%)	9,8	14,3
Taxa de perda pré-implantação (%)	0	0
Taxa de perda pós-implantação (%)	12,2	39,3
Taxa de viabilidade fetal	87,8	60,1

Os valores absolutos estão expressos em média ± EPM e as taxas em porcentagem.

O peso do útero com os filhotes, e as respectivas placentas não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos analisados (Figura 1A). Ao longo de 21 dias os filhotes foram pesados e não apresentaram diferenças significantes na evolução de peso corporal entre os dois grupos (Figura 1B). O aparecimento das características fenotípicas (pelos, descolamento do pavilhão auricular, abertura dos olhos e descida dos testículos) também não apresentaram diferenças em relação ao dia de ocorrência entre os filhotes de mães controles e as que receberam *malathion* (Figura (3A)).

Figura 1. (A) Peso do útero com os filhotes e placentas; (B) Evolução de peso corporal dos filhotes nascidos a termo, (C) Aparecimento de características fenotípicas na prole: I- aparecimento de pelos, II- descolamento do pavilhão auricular, III- abertura dos olhos e IV- descida dos testículos para a bolsa escrotal.



Valores expressos em média ± EPM.

4 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Avaliar os efeitos do *malathion* sobre a biologia reprodutiva é um passo importante para questionar o uso excessivo de inseticidas em ambientes urbanos. Os parâmetros reprodutivos analisados nos machos apontaram uma tendência a diminuição no peso absoluto do epidídimo nos animais expostos, assim como uma tendência a maior necessidade de estimulação para a realização do comportamento sexual, evidenciado pela tendência ao aumento da quantidade de montas e maior latência para a realização da primeira intromissão, sugerindo uma ação negativa do inseticida sobre o comportamento sexual.

Estudos evidenciam os efeitos deletérios do *malathion* no sistema reprodutor de machos, relatando alterações na morfologia testicular, redução na contagem de espermatozoides e diminuição na concentração plasmática de testosterona. (JALILI et al., 2019; SALAHSHOOR et al., 2020)

Consideramos este trabalho preliminar, pois os efeitos do *malathion* foram analisados apenas em ratos adultos expostos durante 65 dias. O potencial tóxico dos organofosforados precisam ser avaliados em diferentes momentos das fases da vida dos indivíduos, como instalação da puberdade, puberdade e envelhecimento, pois cada uma delas possui um complexo mecanismo de controle neuroendócrino (ORTIZ-DELGADO et al., 2018).

Em relação as fêmeas, ao realizar o acompanhamento do ciclo estral é evitado uma série de vieses devido às alterações hormonais, e constituindo se um grupo experimental homogêneo, sendo este um importante fator para fornecer um resultado próximo da normalidade (VILELA, 2007).

As fêmeas analisadas neste trabalho apresentaram um ciclo estral com duração média de 4 a 5 dias, sendo caracterizado pelas fases de: metaestro, diestro, proestro e estro. Esse padrão de ciclo estral condiz com os valores de normalidade estabelecidos na literatura (MARCONDES; BIANCHI; TANNO, 2002).

Não foi encontrado na literatura relatos sobre os efeitos do MLT ou de inseticidas do grupo organofosforado no peso corporal de fêmeas do gênero Wistar. No entanto, os resultados aqui descritos mostraram que as fêmeas tratadas não apresentaram diferenças significantes no peso corporal do 6º ao 20º dia de gestação, quando comparados com as fêmeas do grupo controle.

Em relação à fertilidade dos animais, os resultados mostraram que as fêmeas que receberam o MLT não apresentaram alterações no número de corpos lúteos e sítios de

implantação, porém apresentaram uma tendência a diminuição do número de fetos vivos e aumento no número de perdas pós implantação quando comparadas com os animais controles. O início da prenhez, ou seja, da fertilização até a implantação é considerada um período crítico onde pode ocorrer perdas gestacionais. Exposição de fêmeas a pesticidas durante essa fase pode ocasionar alterações fetais que podem gerar lesões físicas e/ou comportamentais. Essas alterações podem ocorrer durante a prenhez ou imediatamente após o nascimento (CASTRO, 2006).

As fêmeas tratadas com MLT e acasaladas com machos controle apresentaram tendência à diminuição na taxa de gestação e viabilidade fetal e tendência ao aumento na taxa de reabsorções e perdas pós implantação. Tais dados permitem sugerir que o MLT pode dificultar o desenvolvimento embrionário após a fase implantacional, assim como na viabilidade fetal.

Os resultados do presente trabalho mostraram que o desenvolvimento pós natal dos filhotes de mães submetidas a ingestão do MLT foi semelhante ao dos filhotes das mães controles em relação ao peso corporal e a ocorrência de algumas características como aparecimento dos pelos, abertura dos olhos, descolamento do pavilhão auricular e descida do testículo.

Alguns animais expostos a três tipos de inseticidas diferentes, inclusive um organofosforado, não apresentaram diferenças no ganho de peso e nem no tempo médio (dias) para o surgimento das características do desenvolvimento geral investigadas: descolamento dos pavilhões auriculares e abertura dos olhos e descida dos testículos ao saco escrotal (ARAUJO, 2005).

Porém, já existem estudos realizados que mostram que o MLT e/ou seus produtos de degradação podem ser transferidos da mãe grávida para o feto em desenvolvimento e que também podem ser passados a animais recém-nascidos pelo leite materno (GERBERDING, 2003).

Além disso, estudos epidemiológicos têm relatado que a exposição a pesticidas organofosforados pode diminuir o período gestacional, reduzir o crescimento do feto e aumentar as malformações congênitas (DING et al., 2011). Olgun (2004) relata que a partir do uso disseminado dos organofosforados, diversos efeitos adversos podem ser detectados em populações humanas e outras espécies animais, como neurotoxicidade, imunotoxicidade, carcinogenicidade, desregulação endócrina e alterações no desenvolvimento.

Segundo Castro (2006) as consequências de uma exposição a inseticidas no período gestacional são preocupantes, pois os organismos jovens são mais suscetíveis aos efeitos desses produtos. Por isso, a prole deve ser analisada futuramente com objetivo de avaliar os parâmetros de fertilidade em machos e fêmeas.

Diante disso, podemos inferir que o MLT pode influenciar nos parâmetros reprodutivos e no período gestacional de ratos Wistar, principalmente no desenvolvimento embrionário pós implantação e na viabilidade fetal, e que apesar de contribuir para o controle de doenças como a Dengue, a exposição a esse inseticida pode ocasionar outros problemas influenciando inclusive na reprodução.

Dessa forma, os resultados do presente estudo sugerem que o MLT pode ter repercussões deletérias sobre o sistema reprodutor tanto de machos quanto de fêmeas, e parece não afetar a prole. No entanto, estudos complementares são necessários com um número amostral maior, assim como análises em diferentes fases da vida.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, S.L.de. Ratos Wistar expostos aos inseticidas lambda-cialotrina, carbaril e metamidofós em testes reprodutivos de curta e longa duração. Curitiba, 2005.

BADII, M. H.; VARELA, S. Inseticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. **Cultura Científica y Tecnológica** n. 28, p. 13, 2008.

BADR, A. M. Organophosphate toxicity: updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 21, p. 26036–26057, jul. 2020.

BHARDWAJ, J. K. et al. N-Acetyl-cysteine mediated inhibition of spermatogonial cells apoptosis against malathion exposure in testicular tissue. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 32, n. 4, p. e22046, abr. 2018.

BOSSI, R. et al. Levels of Pesticides and Their Metabolites in Wistar Rat Amniotic Fluids and Maternal Urine upon Gestational Exposure. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 10, n. 6, p. 2271–2281, 4 jun. 2013.

BRADMAN, A. et al. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 14, p. 1779–1782, nov. 2003.

CASTRO, V.L.de. Estudo experimental em ratos da interação mãe-filhote expostos a agroquímicos. Embrapa, 2006. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/15543>.

DA SILVA, Clenivaldo Pires et al. Os riscos ambientais no Brasil devido ao uso do defensivo Malathion Emulsão Aquosa-EA 44% no controle de *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762)(díptera; culicidae): uma revisão. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 6, p. 638-646, 2020.

DING, G. et al. Effects of trichlorfon on maternal estrous cycle, oocyte maturation, and near-term fetal developmental outcome in mice. **Industrial Health**, v. 49, n. 5, p. 619–625, 2011.

ESKENAZI, B.; BRADMAN, A.; CASTORINA, R. Exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. Suppl 3, p. 409–419, jun. 1999.

GENG, X. et al. Malathion-induced testicular toxicity is associated with spermatogenic apoptosis and alterations in testicular enzymes and hormone levels in male Wistar rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 39, n. 2, p. 659–667, mar. 2015.

GERBERDING, J.L. Toxicological profile for Malathion, 2003. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp154.pdf>>. Acesso em 14 de junho de 2021.

GUILHERMINO, J. DE F. et al. A Ciência no uso de produtos naturais para controle do vetor do vírus Zika (ZIKV). **Revista Fitos**, v. 10, n. 1, 2016.

GUPTA, V. K. et al. Hepatoprotective effect of *Aloe vera* against cartap- and malathion-induced toxicity in Wistar rats. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 10, p. 18329–18343, out. 2019.

HUNGARO, A. et al. Intoxicações por agrotóxicos: registros de um serviço sentinela de assistência toxicológica/ Pesticide poisoning: records of a toxicological assistance sentinel service. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 14, p. 1362, 15 out. 2015.

JALILI, C. et al. Resveratrol Attenuates Malathion Induced Damage in Some Reproductive Parameters by Decreasing Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in Male Rats. **Journal of Family & Reproductive Health**, v. 13, n. 2, p. 70–79, jun. 2019.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, p. 609–614, nov. 2002.

MELLO, N. P. DE et al. Toxicidade aguda e risco ambiental do malathion aplicado em nebulização contra *Aedes aegypti* para organismos aquáticos / Acute toxicity and environmental risk of malathion applied in nebulization against *Aedes aegypti* for aquatic organisms. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 571–578, 2 fev. 2021.

NASCIMENTO, L.; MELNYK, A. A química dos pesticidas no meio ambiente e na saúde. **Revista Mangaio Acadêmico**, v.1, n.1, p. 54-61, 2016.

OLGUN, S. Immunotoxicity of Pesticide Mixtures and the Role of Oxidative Stress. 4 ago. 1998.

ORTIZ-DELGADO, J. B. et al. Toxicity of malathion at early life stages of the Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858): notochord and somatic disruptions. **Histology and histopathology**, v. 33, n. 2, p. 157–169, fev. 2018.

OLIVEIRA, S. R. DE; CALEFFE, R. R. T.; CONTE, H. Chemical control of *Aedes aegypti*: A review on effects on the environment and human health. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 21, n. 3, p. 240–247, 20 dez. 2017.

OZSOY, A. Z. et al. Protective effect of intravenous lipid emulsion treatment on malathion-induced ovarian toxicity in female rats. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 11, p. 2425–2434, jun. 2016.

SALAHSHOOR, M. R. et al. Does *Tribulus terrestris* improve toxic effect of Malathion on male reproductive parameters? **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 12, n. 2, p. 183–191, jun. 2020.

SANTOS, Jessica Adrielle Teixeira et al. Inseticidas organofosforados e intoxicação humana: uma revisão da produção científica sobre o tema. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 2, p. 54-65, 2015.

SILVA, C. P. DA et al. Os riscos ambientais no Brasil devido ao uso do defensivo Malathion Emulsão Aquosa - EA 44% no controle de *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762)

(díptera; culicidae): uma revisão. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 6, p. 638–646, 6 jul. 2020.

TORIANI, S. S. A influência do organofosforado malation 500 EC® na função hepática, renal e tireoidiana de ratas. 2017. Tese de Doutorado. Dissertação de mestrado). Programa de Pós-graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville, Joinville.

VILELA, M.G.; JÚNIOR, J.L. DOS SANTOS.; SILVA. J.G. DE CASTRO. Determinação do ciclo estral em ratas por lavado vaginal. **FEMINA** | vol 35 | nº 10, 2007.

VINHAL, Daniela Cristina; SOARES, Vitor Hugo Cunha. Intoxicação por organofosforados: uma revisão da literatura. **Revista Científica FacMais**, v. 14, n. 3, p. 61-75, 2018