
Effect of noise-induced stress on the hematological parameters of wistar

O efeito do estresse sonoro nos parâmetros hematológicos de ratos wistar

Received: 10-07-2024 | Accepted: 12-08-2024 | Published: 16-08-2024

Carlo Rossi Del Carratore

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5349-7733>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: carlodelcarratore@unimar.br

Maria Angélica Giroto Santos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-8988-0638>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: angelicagirot@gmail.com

Michele Laís de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-8339-2932>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: michelelais26@gmail.com

Bianca Rojo Campos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1495-3722>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: biancarojo_@hotmail.com

Renan Silva de Rossi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8625-149X>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: autoria@email.com

Carlos Eduardo Bueno

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3920-6757>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: autoria@email.com

Rodolfo Claudio Spers

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1583-1299>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: autoria@email.com

Fábio Fernando Ribeiro Manhoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7477-1199>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: fabio manhoso@unimar.br

Júlia Ribeiro Del Carratore

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6331-7759>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: juliacarratore@gmail.com

Patricia Cincotto dos Santos Bueno

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8964-9687>

Universidade de Marília, Brasil

E-mail: pcincotto@gmail.com

ABSTRACT

The conflicts related to urban environmental issues interfere with perspectives on quality of life and stress levels. This study aimed to evaluate the influence of noise-induced stress on hematological parameters. Thirty young adult male Wistar lineage rats, weighing approximately 200g, were used and divided into 3 groups: group 1 (control) did not receive the stress factor, group 2 was exposed to standardized repetitive sound stimulus, with 15 minutes of silence and 15 minutes of noise, and a period of 8 hours of silence from 10:00 PM to 6:00 AM. Group 3 was exposed to non-repetitive sound stimulus. After seven weeks, the animals were euthanized, and blood was collected from the portal vein for hematological analysis upon confirmation of death. The animals group 2 had a lower percentage of weight gain compared to the control group, and the hematological analysis showed alterations in lymphocyte count, hemoglobin, erythrocytes, plasma proteins, and MCH. This study suggested that noise exposure may affect the immunological parameters of Wistar rats. The observed hematological alterations indicate the triggering of adaptive physiological mechanisms under the stress conditions to which the animals were subjected.

Keywords: Wistar rats, Noise stress, Hematological parameters

RESUMO

Os conflitos relacionados aos problemas de meio ambiente urbano interferem nas perspectivas de qualidade de vida e no nível de estresse. O objetivo foi avaliar a influência do estresse sonoro nos parâmetros hematológicos. Foram utilizados 30 ratos machos, Wistar, com aproximadamente 200g separados em 3 grupos: grupo 1: controle, grupo 2: exposto ao estímulo sonoro com repetição padronizada, sendo 15 minutos de silêncio e 15 minutos de barulho, com um período de 8 horas de silêncio e grupo 3: exposto ao estímulo sonoro sem um padrão de repetição. Ao final de sete semanas os animais foram submetidos ao processo de eutanásia e após constatado o óbito o sangue foi coletado da veia porta e encaminhado para realização do Hemograma. Os animais do grupo 2 tiveram uma menor porcentagem de ganho de peso em relação ao grupo controle e a análise do hemograma mostrou alterações na contagem de linfócitos, hemoglobina, eritrócitos, nas proteínas plasmáticas e no MCH nos animais expostos ao ruído. Este estudo sugeriu que a exposição ao ruído pode afetar os parâmetros imunológicos de ratos Wistar. As alterações hematológicas indicam o desencadeamento de mecanismos fisiológicos adaptativos.

Palavras-chave: Ratos Wistar, Estresse sonoro, Parâmetros hematológicos

INTRODUÇÃO

Os conflitos relacionados aos problemas de meio ambiente urbano interferem nas perspectivas de qualidade de vida e no nível de estresse dos moradores, sobretudo quando relacionados aos impactos e à influência na saúde humana (De ALMEIDA ,2020). A poluição sonora, atualmente, é um dos maiores problemas ambientais nos grandes centros urbanos. Esta poluição é causada pelo próprio ser humano como resultado de adaptações as suas próprias necessidades. (CAMPELLO,2023)

Os impactos do ruído na saúde são uma preocupação crescente e a exposição ao ruído, agudas ou crônicas, tem sido associada a vários efeitos nocivos para a saúde, incluindo perturbações do sono, pior saúde mental, hipertensão, arteriosclerose, doença cardíaca e acidente vascular cerebral, ruído e incomodo. (CLARK et al. 2020 ; MÜNZEL et al. 2014) . É cada vez mais reconhecido que a exposição ao ruído, pode aumentar as reações biológicas associadas ao stress levando a diversas respostas negativas como ansiedade, agitação, decepção, distração exaustão e nas células do sistema imunológico (HAHAD et al ,2024; SHE et al. 2021). A teoria geral do estresse afirma que o ruído afeta o sistema nervoso autônomo e o sistema endócrino (SCHULER et al,2021, ERASLAN et al,2015). O estresse é definido como uma resposta do organismo quando o indivíduo se encontra em situações adversas que de alguma forma comprometam sua homeostase, gerando alterações fisiológicas e comportamentais. O estresse configura-se como um conjunto de reações bioquímicas e fisiológicas coordenadas que visam preparar o organismo para se adaptar a perturbações provenientes do seu meio interno ou externo (MCEWEN e AKIL, 2020, RUSSELL; LIGHTMAN, 2019).

Atualmente, estresse se refere a situações de auto percepção em relação a um incômodo ou desgaste corporal ou psíquico (LU; WEI; LI, 2021; MCEWEN e AKIL, 2020). O estímulo capaz de ser percebido pelo organismo e desencadear a reação de estresse pode ser real ou não, já que sua natureza pode variar desde estressores sensoriais (físicos) ou gerados por quadros infecciosos, até psicológicos, como pensamentos ou memórias aversivas (RUSSELL; LIGHTMAN, 2019). Estes estímulos permitem a mobilização de recursos energéticos como resposta a um estímulo ou ameaça percebida pelo organismo (RUSSELL; LIGHTMAN, 2019).

Estudos tem demonstrado o efeito da poluição sonora no sangue e nas células do sistema imunológico tanto em humanos como em animais(ABOUEE-MEHRIZI,2022)

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do estresse sonoro nos parâmetros hematológicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 30 ratos machos, adultos jovens da linhagem Wistar, com aproximadamente 200g provenientes do Biotério da Universidade de Marília. Os animais foram separados em 3 grupos contendo 10 indivíduos por grupo, alojados em caixas com lotação máxima de 5 indivíduos, perfazendo 2 caixas por grupo.

Foi fornecido água e comida a vontade e os animais foram mantidos em um ciclo claro-escuro de 12 horas.

Os animais passaram por um período de adaptação de 7 dias antes do início do experimento, sendo manipulados para que se acostumem com a rotina de manejo e o contato com as pessoas.

Método

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 10 repetições. Assim, o grupo 1, considerado grupo controle, não recebeu o fator estressante, o grupo 2 foi exposto ao estímulo sonoro com repetição padronizada, sendo 15 minutos de silêncio e 15 minutos de barulho, com um período de 8 horas de silêncio, das 22:00 às 06:00hrs. O grupo 3 foi exposto ao estímulo sonoro sem um padrão de repetição, ou seja, o som será aleatorizado por alterações diárias no aparelho controlador acoplado ao rádio (timer) e os intervalos de som e silêncio a que foram submetidos mudava constantemente, tornando muito difícil uma previsão dos animais em relação ao fator estressor.

Ao final de sete semanas os animais foram submetidos ao processo de eutanásia. Foi utilizado como protocolo tiopental sódico com administração, por via intraperitoneal, de 100mg/kg.

Após constatado o óbito o sangue foi coletado da veia porta e encaminhado para o laboratório para realização do Hemograma.

Para determinação dos parâmetros hematológicos, sangue (1 mL) foi coletado de cada rato em frascos de amostra, contendo ácido etilenodiaminotetracético (9:1). Parâmetros hematológicos de PCV, concentração de hemoglobina, contagem de eritrócitos, índices eritrocitários, contagem de plaquetas, contagem absoluta e diferencial

de leucócitos foram determinados usando o analisador hematológico automatizado (Sysmex, KX-21, Japão)

Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão e para comparação entre grupos foi utilizada análise de variância (ANOVA) ou Kruskal-Wallis dependendo da natureza dos dados e para comparação entre dois grupo tese *t Student* ou teste de Mann-Whitney com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 podemos observar o peso inicial, final e a variação de ganho de peso dos animais durante o experimento. Os animais do grupo 2 tiveram uma menor porcentagem de ganho de peso em relação ao grupo controle. Desde 1986 já foi evidenciado por Encarnação que o estresse diminui o ganho de peso em animais de criação. Trabalhos posteriores demonstraram que em animais de biotério o estresse sonoro diminui o ganho de peso corporal e a ingestão alimentar. Os efeitos do ruído também têm impacto nas taxas de consumo de alimentos e água (RUSSO et al, 2017; CASTELHANO-CARLOS, 2009).

Tabela 1-, Peso inicial, Peso final, % ganho de peso dos animais do grupo controle (Grupo 1) ,, animais expostos ao estímulo sonoro com repetição padronizada (grupo2) 2 , e o grupo que foi exposto ao estímulo sonoro sem um padrão de repetição (grupo 3).

Parâmetro	Grupo1	Grupo2	Grupo3
Peso inicial	141,9 \pm 17,23	147,1 \pm 11,68	145,0 \pm 25,52
Peso final	360,7 \pm 29,68	347,6 \pm 34,21	346,9 \pm 34,71
% ganho de peso*	156,1 \pm 25,98 ^a	137,0 \pm 23,87 ^b	145,3 \pm 44,54 ^{ab}

*valores estatisticamente diferentes, Letras iguais não diferem entre si

Fonte :próprio autor

Tabela 2- Parâmetros hematológicos dos animais do grupo controle (Grupo 1) , dos animais expostos ao estímulo sonoro com repetição padronizada (grupo2) e do grupo que foi exposto ao estímulo sonoro sem um padrão de repetição (grupo 3)

Parâmetro	Grupo1	Grupo2	Grupo3
Hematócritos	45,50 ±3,95	45,22±5,24	43,00±4,36
Hemoglobina*	15,45 1,45 ^{ab}	15,67 0,52 ^a	14,34 0,59 ^b
Eritrócitos*	7,88±0,78 ^{ab}	7,95±0,44 ^a	7,30±0,26 ^b
Plaquetas	849,7±173,8	996,0±225,4	814,30±275,3
Leucócitos	6,56±2,08	6,80±0,97	7,500±1,43
Linfócitos	3986±1472,0	4118±883,9	4359±1182,0
Neutrófilos*	2413±598,8 ^{ab}	2467±162,2 ^b	2899±365,8 ^a
Relação n/L	0,38± 0,04	0,36 ±0,05	0,39 ±0,06
Proteínas*	6,64±0,69 ^b	7,04±0,38 ^a	6,711±0,55 ^{ab}
Monócitos	162,5±93,37	215,5±41,41	243,5±105,9
MCV	59,92±1,43	59,13±2,41	59,05±0,69
MCH*	328667±4082 ^b	329500±2881 ^b	333000±3795 ^a

*valores estatisticamente diferentes, Letras iguais não diferem entre si.

Fonte :próprio autor

O ruído desempenha um papel na homeostase do sistema imunológico. Em relação a tabela 2 notamos uma diminuição significativa na contagem total de eritrócitos e hemoglobina de ratos do grupo exposto ao estímulo sonoro sem um padrão de repetição (grupo3). Os resultados deste estudo estão de acordo com estudos anteriores que mostraram uma alteração dos eritrócitos e hemoglobina de acordo com a intensidade do som, sugerindo que a diminuição observada na Hb e contagem total de eritrócitos nos ratos estressados pode ser devido ao aumento da peroxidação lipídica nas membranas das células eritrocitárias e subsequente oxidação da hemoglobina (ISAAC et al.,2017).

O estresse agudo é mediado pelas catecolaminas e tem por característica no hemograma apresentar leucocitose por neutrofilia, linfocitose, monocitose e eosinofilia. Esta leucocitose é fisiológica e transitória, iniciando no momento do estímulo das catecolaminas e durando em torno de 20 a 30 minutos (ABOUEE-MEHRIZI et al., 2022).

O possível mecanismos de ativação do sistema imunológico induzida por ruído pode ser explicado pelo aumento dos níveis de norepinefrina, epinefrina, angiotensina II e cortisol no sangue periférico induzindo a ativação da NADPH oxidase endotelial, que pode causar estresse oxidativo no sistema vascular (MÜNZEL et al, 2014). A formação de superóxido endotelial pode levar ao desacoplamento do óxido nítrico sintetase reduzindo a produção de NO. Enquanto isso, os níveis de IL-6 e ET-1 no endotélio vascular também estão aumentados. Essas alterações podem promover a infiltração e agregação de monócitos, células NK e neutrófilos nos vasos. Eventualmente, o número e a atividade de várias células imunes nos vasos aumentam, resultando em aumento da atividade imune em um curto espaço de tempo. (ABOUEE-MEHRIZI, et al. , 2022).

Para avaliar o impacto da poluição sonora nos parâmetros hematológicos, foi realizada a contagem de leucócitos. A tabela 2 mostra que não houve alterações na contagem de leucócitos quando os animais foram expostos à poluição sonora.

A contagem de neutrófilos é um indicador considerável para avaliar o estado inflamatório e imunológico do corpo. Podemos observar uma neutrofilia no grupo 3. Na tabela 2 observamos um aumento destas células nos grupos expostos ao ruído.

Como a contagem de monócitos é considerada um parâmetro respeitado para avaliar o estado normal da saúde fisiológica e imunológica, medimos a contagem total de monócitos e observamos que não houve alteração destes valores entre os grupos.

Na mesma tabela podemos observar que houve incremento na contagem de linfócitos porém este aumento não apresentou diferença estatística entre os grupos quando os animais foram expostos à poluição sonora (NWUKE et al, 2021).

Foi investigado também os efeitos da poluição sonora sobre o nível de proteínas séricas de ratos machos Wistar e podemos verificar que houve um aumento destas proteínas no grupo exposto ao ruído. Estes dados vão de encontro com Hekmat et al em 2020 que demonstraram alterações nas proteínas sanguíneas em ratos expostos ao ruído no Grande Bazar de Teerã e nas proximidades da estação de metrô Sadeghiyeh (West Rose Street).

Em animais, foi demonstrado, que a exposição ao ruído que a poluição sonora leva a um aumento do volume médio das células sanguíneas (MCV), do tamanho médio da

hemoglobina (MCH) e da concentração média de hemoglobina celular (MCHC) valores que vão de encontro com o nosso trabalho. (PAULINUS et al.2024)

Conclusão

Este estudo sugeriu que a exposição ao ruído de pode afetar os parâmetros imunológicos de ratos Wistar. As alterações hematológicas observadas indicam o desencadeamento de mecanismos fisiológicos adaptativos, deflagrados em condições de estresse aos quais os animais foram submetidos.

REFERÊNCIAS

ABOUEE-MEHRIZI, Amirreza et al. Inflammatory and immunological changes caused by noise exposure: A systematic review. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 38, n. 1, p. 61-90, 2022.

CAMPELLO, Felipe Arrelaro. *Poluição: Causas, consequências e soluções*. Editora Senac São Paulo, 2023

CASTELHANO-CARLOS, Magda João; BAUMANS, V. The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. **Laboratory animals**, v. 43, n. 4, p. 311-327, 2009.

CLARK C, Crumpler C, Notley AH. Evidence for environmental noise effects on health for the united kingdom policy context: a systematic review of the effects of environmental noise on mental health, wellbeing, quality of life, cancer, dementia, birth, reproductive outcomes, and cognition. **Int J Environ Res Saúde Pública**17:393. 2020;

De ALMEIDA, Sâmia Maria Barros; VON SÖHSTEN TRIGUEIRO, Janaína; DOS SANTOS CAVALCANTI, Marília Gabriela. Poluição sonora e o mapeamento do ruído urbano: revisão da literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 80776-80787, 2020.

ENCARNAÇÃO, R.de O. Estresse e produção Campo Grande, **EMBRAPA-CNPQC**, 1986.

ERASLAN E, Akyazi I, Ergul-Ekiz E, et al. Noise stress changes mRNA expressions of ϵ corticotropin-releasing hormone, its receptors in amygdala, and anxiety-related behaviors. **Noise Health.**;17(76):141, 2015.

HAHAD O, Kuntic M, Al-Kindi S, Kuntic I, Gilan D, Petrowski K, Daiber A, Münzel T. Noise and mental health: evidence, mechanisms, and consequences. **J Expo Sci Environ Epidemiol.** 2024

HEKMAT A, Fahimi Z, Haeri Rohani S A. The effects of noise pollution on blood serum protein of Wistar male rats. **NBR**; 7 (1) :19-29;2020

ISAAC , Ao et al. Ameliorative effects of kaempferol and zinc gluconate on erythrocyte osmotic fragility and haematological parameters in wistar rats exposed to noise stress. **Insights in Biomedicine**, v. 2, n. 03, 2017.

LU, S.; WEI, F.; LI, G. The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. **Cell Stress**, v. 5, n. 6, p. 76–85, 2021.

MCEWEN, B. S.; AKIL, H. Revisiting the stress concept: Implications for affective disorders. **Journal of Neuroscience**, v. 40, n. 1, p. 12–21, 2020.

MÜNZEL T, Gori T, Babisch W, Basner M. Efeitos cardiovasculares da exposição ao ruído ambiente. **Eur Coração J.** 35:829–36; 2014.

NWUKE, Chinedu P. et al. Comparative studies on the effects of high sound levels on the haematological parameters and antioxidant levels of Wistar albino rats. **Open Access Library Journal**, v. 8, n. 03, p. 1, 2021.

PAULINUS, Nwuke Chinedu et al. Comparative Studies on the Effects of High Sound Levels on the Haematological Parameters and Antioxidant Levels of Wistar Albino Rats. **Int Clin Med Case Rep Jour.** ; 3 (1): 1, v. 11; 2024

RUSSELL, G.; LIGHTMAN, S. The human stress response. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15,2019

RUSSO C, Russo A, Gulino R, Pellitteri R, Stanzani S. Effects of different musical frequencies on NPY and Ghrelin secretion in the rat hypothalamus. **Brain Res Bull.** 2017.

SCHULER AL, Pellegrino G. fMRI Acoustic Noise Enhances Parasympathetic Activity in Humans. **Brain Sci.** Oct 27;11(11):14162021.

SHE X, Gao X, Wang K, Yang H, Ma K, Cui B, Xi Z. Effects of noise and low-concentration carbon monoxide exposure on rat immunity. **J Occup Health** Jan;63(1):e12235. 2021.