# AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO A AGROTÓXICOS NOS TESTES DE CAMPO ABERTO E NATAÇÃO FORÇADA

Juliane Gabriele Martins (PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Edmar Miyoshi (Orientador), e-mail: edmar@uepg.br. Lillian Caroline Fernandes (Co-orientadora).

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas.

**Área e subárea do conhecimento: Farmacologia e Neuropsicofarmacologia.**

**Palavras-chave:** Doença de Parkinson, Wistar, Paraquat, Mancozeb, Clorpirifós.

**Resumo**

A doença de Parkinson (DP) causa degeneração dos neurônios dopaminérgicos, provocando sintomas motores e não motores. A etiologia da doença não é comprovada ainda, mas existem vários estudos que relatam um maior índice da DP em áreas rurais em comparação com as áreas urbanas. Essa diferença pode estar associada a maior exposição por agrotóxicos na agricultura. O presente projeto analisa a relação entre o desenvolvimento de sintomas semelhantes a DP e a exposição a agrotóxicos, sendo um herbicida (Paraquat), um fungicida (Mancozeb) e um inseticida (Clorpirifós). Para avaliar se ocorreram alterações motoras, os ratos foram divididos em quatro grupos de acordo com o tratamento utilizado. Após os tratamentos, foi realizado os testes de campo aberto para avaliar a capacidade exploratória do animal. Também foi avaliado sua imobilidade, natação e número de escaladas pela natação forçada. Os testes de campo aberto e natação forçada demonstram indícios de que a exposição ao Paraquat em associação ao Mancozeb e Clorpirifós, pode ocasionar comprometimento motor e sinais depressivos, sendo sintomas semelhantes a DP.

## Introdução

O aumento do uso indiscriminado de agrotóxicos, causa grande preocupação em relação à saúde de consumidores e produtores agrícolas, sendo necessário o surgimento de pesquisas com o objetivo de estudar os impactos dos agrotóxicos na saúde humana (RIGOTTO, VASCONSELOS, et al. 2014). Alguns estudos reforçaram a diferença na prevalência da DP na zona rural em comparação com a zona urbana (BRECKENRIDGE, 2016; HUTSON, 2010).

A doença de Parkinson (DP) provoca a degeneração do sistema nervoso central (JELLINGER, 2015), diminuindo a produção de dopamina (um neurotransmissor) na substância negra (CHINTA, 2012), que auxilia para realizações de movimentos. A diminuição de dopamina na substância negra, localizada no mesencéfalo, provoca sintomas não motores e motores. A ingestão de produtos contaminados por agrotóxicos, demonstra que a exposição a herbicidas, fungicidas e inseticidas, podem prejudicar a capacidade mitocondrial, desencadeando estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode ser induzido pela exposição ao Paraquat e Mancozeb, que são herbicidas e fungicidas, e há também a utilização de Clorpirifós, que pertencente à classe dos inseticidas (QUATRIN et al., 2016). Com base nisso, o projeto buscou analisar se a exposição a agrotóxicos causa sintomas motores no teste de campo aberto e natação forçada.

## Materiais e Métodos

Os animais selecionados para a pesquisa foram ratos machos da linhagem Wistar, com peso inicial de aproximadamente 290 gramas e três meses de idade. Os animais foram mantidos em climatizado (22ºC), com ciclo claro-escuro de 12 horas com início às 7 horas. Esses animais foram divididos em quatro grupos de acordo com o tratamento utilizado.

Os tratamentos realizados consistem em: i) água (veículo); ii) herbicida (Paraquat); iii) associação herbicida com fungicida (Paraquat + Mancozeb); iv) associação herbicida com inseticida (Paraquat + Clorpirifós). As administrações ocorreram diariamente, durante quatro semanas. Para administração no animal foi utilizado 2 mL/kg. Após os períodos de tratamento, foram realizados os testes de campo aberto e natação forçada. Ambos filmados para análise posterior.

*Teste de campo aberto:* O objetivo deste teste era analisar a capacidade motora do animal. Para a realização do teste, foi utilizada uma caixa de madeira com dimensões de 100 cm X 100 cm e 30 cm de altura, dividida em 25 quadrados com área de 20 cm X 20 cm cada um. Para análise, o animal foi posicionado no centro da caixa. Foi avaliado o número de linhas cruzadas com as patas traseiras e números de ato de levantar “rearing” (apenas pelas patas traseiras), durante 5 minutos.

*Teste de natação forçada:* Foram analisados os seguintes parâmetros: tempo de imobilidade, tempo de escalada e tempo de natação. A natação é caracterizada pelos movimentos circulares do animal do cilindro, a escala é o tempo que o animal permanece com as patas dianteiras realizando movimentos verticais no cilindro, enquanto a imobilidade é caracterizada pelos movimentos mínimos do animal, significando comprometimento motor.

## Resultados e Discussão

Teste de campo aberto: Foi possível observar que os animais do grupo Paraquat + Mancozeb e Paraquat + Clorpírifós, realizaram menor número de linhas cruzadas, em comparação com o grupo controle. E, os grupos Paraquat, Paraquat + Mancozeb realizaram menos rearing que o grupo controle. Entre os grupos Paraquat e Clorpirifós não foram observadas diferenças significativas. A partir desses dados, é observado que a exposição ao Paraquat e associações, provocaram um comprometimento da capacidade motora, porém, não houve diferença entre o grupo Paraquat e os grupos Paraquat e associações.

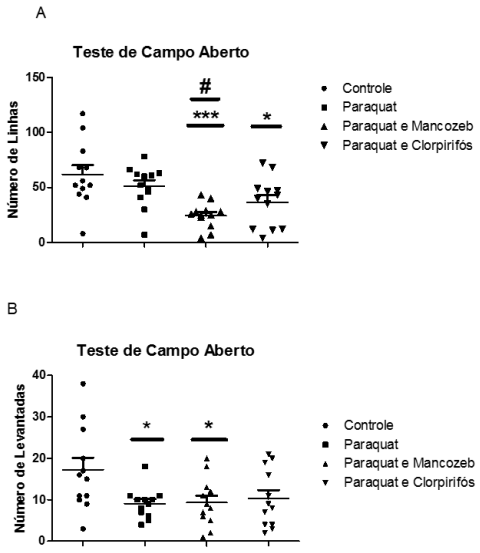


**Figura 1.** Resultados do Teste de Campo Aberto, sendo o item A o número de linhas cruzadas e o item B o número de atos de levantar (rearing).
As barras representam a média e o desvio padrão, e cada ponto representa um animal.
Fonte: A autora.

Teste de natação forçada: Foi analisado o tempo de imobilidade, tempo de escalada e tempo de natação do rato, durante cinco minutos. O maior tempo de imobilidade indica a presença de sinais do tipo depressivos e/ou de comprometimento motor.
Os animais dos grupos Paraquat, Paraquat e Mancozeb, e Paraquat e Clorpirifós, ficaram imóveis por um tempo maior que o grupo controle, porém não houve diferença significativa entre as associações. Em relação ao tempo de escalada, o grupo controle teve maior tempo de escalada que o grupo Paraquat e Mancozeb, e Paraquat e Clorpirifós. Não houve diferenças significativas entre as associações.

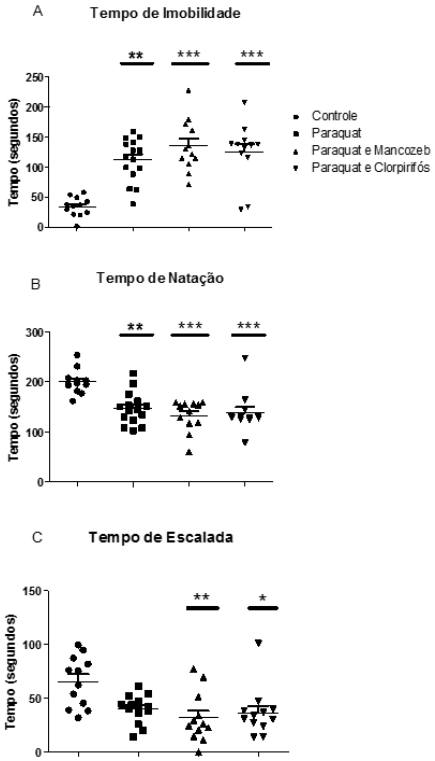



**Figura 2.** Resultados do Teste de Natação Forçada. Item A. Tempo de Imobilidade, B. Tempo de Natação, C. Tempo de Escalada. Todos expressos em segundos (s).
As barras representam a média e o desvio padrão, e cada ponto representa um animal.
Fonte: A autora.

## Conclusões

Os testes de campo aberto e natação forçada demonstram indícios de que a exposição ao Paraquat em associação ao Mancozeb e Clorpirifós, pode ocasionar comprometimento motor e sinais depressivos, sendo sintomas semelhantes a DP. Os resultados obtidos estão de acordo com alguns estudos presentes na literatura.

## Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Edmar Miyoshi pela orientação.
A Lillian Caroline Fernandes, pela co-orientação.

Ao Anderson Gustavo Santos, pelos ensinamentos.
Aos colegas de laboratório, pela companhia e ajuda durante o projeto.
A fundação Araucária, pela bolsa concedida.

**Referências**

BONNET, A. M.; HOUETO, J. L. Pathophysiology of Parkinson's disease. **Biomed & Pharmacother.** v. 53, p. 117-121, 1999.

BRECKENRIDGE, C.B; BERRY, C. et al. Association between Parkinson's disease and Cigarrete smoking, rural living, well-water consumption, Farming and pesticide use: Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS ONE**. v. 11, n.4, p.1-42, 2016.

CHINTA, A; GANESAN, P. et al. Anti-inflammatory role of the isoflavone diadzein in lipopolysaccharide-stimulated microglia: implications for Parkinson's disease. **Neurotox. Res**. v.23, n.2, p.145–153, 2013.

HUTSON, C.B; LAZO, C.R. et al. Traumatic Brain Injury in Adults Rats Causes Progressive Nigrostriatal Dopaminergic Cell Loss and Enhaced Vulnerability to the Pesticide Paraquat. **Journal of Neurotrauma**. v.28. p.1783-1801, 2010.

JELLINGER, K. A. Neuropathobiology of non-motor symptoms in Parkinson disease. **Neural Transm (Vienna),** v. 122, n. 10, p. 1429-40, 2015.

KUMAR, A. et al. Formation and implications of alpha-synuclein radical in maneb-and paraquat-induced models of parkinson's disease. **Molecular neurobiology, Springer,** v. 53, n. 5, p. 2983–2994, 2016.

MACEDO, T; COSTA, M. et al. Factors related to periodontal disease in a rural population. **Brazil Oral Research**. v.20, p.257-262, 2006.

MARTINS, T. Herbicida paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 175–186, 2013.

QUATRIN, G. D. et al. Validação analítica para determinação de clorpirifós e avaliação da eficiência do sistema biobed brasil. **Universidade Federal de Santa Maria**, 2016.

RIGOTTO, R. M.; VASCONSELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Car. Saúde Púnlica.** V. 30, p. 1-3, 2014.

TINAKOUA, A. et al. The impact of combined administration of paraquat and maneb on motor and non-motor functions in the rat. **Neuroscience, Elsevier**, v. 311, p. 118–129, 2015.