AVALIAÇÃO E NIVEIS DE DEPRESSÃO E ANSIEDAE EM RATOS WISTAR MACHOS FRENTE A EXPOSIÇÃO DE PESTICIAS

Lucas Fernando Fonseca (PIBIC/PROVIC/Fundação Araucária/UEPG), Edmar Miyoshi (Orientador), e-mail: edmar@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento Ciências Biológicas e da saúde.

Ciências Farmacêuticas/Departamento de Ciências e Biológicas e da Saúde.

Palavras-chave: Neurotoxicidade, Pesticidas, Ansiedade e Depressão.

Resumo

O uso de pesticidas é cada vez mais necessário para uma maior produção alimentícia, diminuindo as pragas e aumentando os lucros. No Brasil, são utilizados 300 mil toneladas destes pesticidas todos os anos, tendo destaque três principais: Paraquat, Mancozeb e Clorpirifós. O Clorpirifós está associado a declínio cognitivo, depressão e suicídio, o Mancozeb e o Paraquat estão associados ao Parkinsonismo. Pesquisas anteriores demonstram que os seres humanos estão susceptíveis a alimentos com estes pesticidas e outros estudos demonstraram sinergismo entre estes produtos, o que levou a potencializar sua toxicidade. Com base nisto, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da administração destes pesticidas em ratos wistar macho, visando analisar possíveis efeitos ansiolítico e depressivos induzidos pela ingestão dos pesticidas supracitados. Para isso, foram usados 48 ratos da linhagem *Wistar,* divididos em 4 grupos: Controle/Agua (N=12), Paraquat (N=12), Paraquat+Mancozeb (N=12), Paraquat+Clorpirifós (N=12), após a exposição por 28 dias, os animais passaram por testes de campo aberto e natação forçada. Os resultados foram positivos para sintomas ansiogênico e depressivo.

Introdução (Arial 12, Negrito, alinhado à esquerda)

O uso de pesticidas tem sido cada vez mais necessário para atender a demanda populacional mundial, afim de controlar as doenças e maximizar a produção e por conseguinte os lucros. No Brasil, são utilizados 300 mil toneladas destes pesticidas todos os anos, tendo destaque três principais: Paraquat, Mancozeb e Clorpirifós, sendo estes herbicida, fungicida e inseticida, respectivamente. Todos estes agentes citados são capazes de causar alterações comportamentais e a nível de SNC. O Clorpirifós está associado a declínio cognitivo, depressão e suicídio, o Mancozeb e o Paraquat estão associados ao Parkinsonismo. Pesquisas anteriores demonstram que os seres humanos estão susceptíveis a alimentos com vários destes pesticidas e outros estudas demonstraram sinergismo entre estes produtos o que levou a potencializar sua toxicidade. Com base nisto, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da administração de Paraquat isoladamente e em associação com Mancozeb e Clorpirifós em ratos wistar macho, visando analisar possíveis efeitos ansiolítico e depressivos induzidos pela ingestão dos pesticidas supracitados.

Materiais e Métodos

Animais

O estudo utilizou ratos machos da linhagem Wistar com três meses de idade e com peso inicial aproximado de 290 gramas. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado (22 + 2ºC), com ciclo claro-escuro de 12 horas (ciclo claro inicia-se as 07h) e foram mantidos com água e ração à vontade. Foram utilizados 48 animais (Controle N=12; Paraquat N=12, Paraquat + Mancozeb N=12; Paraquat + Clorpirifós N= 12). A manipulação da amostra seguiu o protocolo de recomendações da COBEA (Código Brasileiro de Experimentação Animal) e esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UEPG (protocolo 040/2016).

Divisão dos Grupos de Estudo

A divisão dos grupos se deu de acordo com o tratamento: água (veículo), Paraquat 1 mg/kg (herbicida), Paraquat 1mg/Kg e Mancozeb 3mg/Kg (herbicida e fungicida) e Paraquat 1 mg/Kg e Clorpirifós 0,3 mg/Kg (herbicida e inseticida), totalizando 4 grupos. As administrações dos tratamentos foram feitas por gavagem e as soluções para o tratamento foram preparadas diariamente assim como as administrações. O tratamento durou 4 semanas e o cálculo para a para a dose de administração seguiu a seguinte formula: 2ml/1000g de peso do animal. Após as administrações foram realizados os testes comportamentais.

Teste de Campo Aberto

Esse teste foi desenvolvido por HALL em 1934 e tem como objetivo avaliar a capacidade exploratória do animal. O animal e posicionado no centro de uma arena de 100cm x 100cm dividida em 25 quadrados de 20cm x 20cm. Os parâmetros avaliados neste teste foram o número de linhas cruzadas com as patas traseira e o número de atos de levantar sobre as patas traseiras. O animal permaneceu nesse ambiente por 5 minutos para avaliação dos parâmetros supracitados.

Teste de natação forçada

O teste utilizado foi modificado, originalmente descrito por PORSOLT e colaboradores, o teste tem como finalidade de avaliar sintomas do tipo depressivo e comprometimento motor. Para essa avaliação, os animais foram colocados em um cilindro de plástico opaco (diâmetro: 20 cm, altura: 50 cm e contendo água até 30 cm na temperatura de 23 - 25oC). Esse teste se deu em duas etapas. No primeiro momento, ocorreu a sessão treino, onde os animais permaneceram nesse ambiente descrito por 15 minutos, para adaptação.

Após vinte e quatro horas, ocorreu a sessão teste propriamente dita, nessa etapa foi posicionada uma câmera acima do cilindro para filmar o comportamento dos animais no teste, os animais permaneceram no ambiente descrito por cinco minutos.

No teste foi avaliado três tipos de comportamento: tempo de natação, onde foi observado o tempo que o animal de mantem em movimentos circulares no cilindro; o tempo de escalada, onde foi observado os movimentos verticais com as patas

dianteiras na pares do cilindro; o tempo de imobilidade, onde foi observado o tempo que o animal permanecia inerte flutuando no cilindro.
A agua dos cilindros foi trocada entre cada animal e após os testes os animais foram secos e colocados em ambiente aquecido por duas horas antes de retornar a caixa moradia

Resultados e Discussão

Em relação ao número de linhas cruzadas, verificou-se que os animais do grupo Paraquat+Mancozeb e Paraquat+Clorpirifós tiveram menor número de cruzadas quando comparados ao grupo controle e ainda o grupo Paraquat+Mancozeb teve diferença comparado ao grupo Paraquat. No que se refere as levantadas, animais expostos ao Paraquat e ao Paraquat+Mancozeb apresentaram um número menor de levantadas comparados ao controle.

Esses resultados apontam que a exposição ao Paraquat e as associações causaram déficits motores e comportamento do tipo ansiogênicos e ainda a associação com Mancozeb potencializou o efeito do Paraquat administrado isoladamente. No que se refere ao número levantadas, os animais expostos ao Paraquat e Paraquat e Mancozeb tiveram menor número de atos de levantar, apontando déficit motor e comportamento do tipo ansiogênicos.

Em relação ao tempo de imobilidade, os grupos Paraquat, Paraquat+Mancozeb e Paraquat+Clorpirifós tiveram tempo maior que o grupo controle, em relação ao tempo de natação e escalada, os grupos Paraquat, Paraquat+Mancozeb e Paraquat+Clorpirifós tiveram tempo menor ao grupo controle, porem em nenhum dos casos houve diferença estatisticamente significativa.

Conclusões

Com o presente estudo, pode-se notar que a ingestão crônica a pequenas doses de Paraquat e associações com o Mancozeb e Clorpirifós foi capaz de causar sinais ansiogênicos e do tipo depressivos. Esses achados corroboram com alguns estudos presentes na literatura. No entanto, se faz necessário análises bioquímicas para compreender a via e a etiologia dessas alterações

Agradecimentos

Agradeço a Fundação Araucária pelo apoio, contribuindo para a formulação do trabalho produzido.
Ao CNPq pelo apoio financeiro

Referências

ABREU-VILLACA, Y.; LEVIN, E. D. Developmental neurotoxicity of succeeding generations of insecticides. **Environment international, Elsevier**, v. 99, p. 55–77, 2017.
ALDRIDGE, J. E. et al. Developmental exposure of rats to chlorpyrifos leads to behavioral alterations in adulthood, involving serotonergic mechanisms and resembling animal models of depression. **Environmental health perspectives, National Institute of Environmental Health Science**, v. 113, n.5, p. 527, 2005.

ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (para): Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015. **Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, portal.anvisa.gov.br**, 2016.

BALTAZAR, M. T. et al. Pesticides exposure as etiological factors of parkinson's disease and other neurodegenerative diseases—a mechanistic approach. **Toxicology letters, Elsevier**, v. 230, n. 2, p. 85–103, 2014.

CALVIELLO, G. Et Al. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. **Toxicology and applied pharmacology, Elsevier**, v. 211, n. 2, p. 87–96, 2006.

CENTRO. Dados e fatos sobre o paraquat. **Centro de informações sobre o Paraquat, paraquat**.com, 2013.

CZERNICZYNIEC, A. et al. Paraquat induces behavioral changes and cortical and stri- atal mitochondrial dysfunction**. Free Radical Biology and Medicine, Elsevier**, v. 51, n. 7, p. 1428–1436, 2011.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. i. defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative psychology, Williams & Wilkins Company**, v. 18, n. 3, p. 385, 1934.

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.

LI, B. et al. Developmental exposure to paraquat and maneb can impair cognition, learning and memory in sprague-dawley rats. **Molecular BioSystems, Royal Society of Chemistry**, v. 12, n. 10, p. 3088–3097, 2016.

PERON, A. P. et al. Ação tóxica do herbicida paraquat sobre o homem. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 7, n. 3, 2003.

PORSOLT, R. D. et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European journal of pharmacology, Elsevier**, v. 47, n.4, p. 379–391, 1978.

RANGEL, C. d. F.; SARCINELLI, P. d. N.; ROSA, A. C. S. Uso de agrotóxicos e suas implicações na exposição ocupacional e contaminação ambiental**. Cad. saúde colet.**, (Rio J.), 2011.

SCHMITT, G. C. et al. Aspectos gerais e diagnóstico clinicolaboratorial da intoxicação por paraquat. J. bras. patol. med. lab, **SciELO Brasil**, v. 42, n. 4, p. 235–243, 2006.

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.