

ALTERAÇÕES NA ATIVIDADE GERAL
OBSERVADA EM CAMPO ABERTO E
CONVULSÕES INDUZIDAS PELA
ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE UM
PRAGUICIDA ORGANOCLORIDADO
(ALDRIN) EM RATOS

MARIA MARTHA BERNARDI

Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

JOAO PALERMO NETO

Professor Titular
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

HELENICE DE SOUZA SPINOSA

Professor Associado
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

BERNARDI, M.M.; PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H.S. Alterações na atividade geral observada em campo aberto e convulsões induzidas pela administração aguda de um praguicida organoclorado (Aldrin) em ratos. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 26(1):69-74, 1989.

RESUMO: O presente trabalho descreve, em seqüência, os sintomas da intoxicação aguda por um praguicida organoclorado (Aldrin) e estuda os efeitos da administração de doses subconvulsivantes de Aldrin na atividade geral de ratos observados em campo aberto. Os resultados mostraram que as doses convulsivantes 50% e letal 50% foram de 52,0 mg/kg (47,3 - 57,2) e de 60,5 mg/kg (46,2 - 79,3), respectivamente. A administração das doses subconvulsivantes de Aldrin diminuiu não só as freqüências de locomoção e levantar, bem como aumentou a duração de paradas. Sugeriu-se que a redução da atividade geral representa um efeito pré-convulsivo do Aldrin relacionado, provavelmente, com o decréscimo dos níveis de catecolaminas cerebrais.

UNITERMOS: Aldrin; Pesticidas organoclorados; Convulsões; Catecolaminas

INTRODUÇÃO

Parte essencial da toxicologia é a investigação dos mecanismos que levam à toxicidade, visando estabelecer, posteriormente, uma terapia racional ou um tratamento sintomático e de suporte, sendo estes últimos de valor discutível. Mudanças comportamentais são indicações precoces de algumas, ainda que ocultas, ações tóxicas centrais que, se detectadas precocemente, podem permitir procedimentos que revertam o processo (WEISS, 17, 1984). Assim, se alguns praguicidas alteram o comportamento animal, por exemplo, interferindo na função motora ou produzindo convulsões, supõe-se que estes tenham ação central. Ganha, desta maneira, destaque nos dias de hoje a Toxicologia Comportamental relacionada a estudos da função motora e dos processos convulsivos entre outros.

Assim, no presente trabalho, procurou-se estudar os efeitos da administração de doses subconvulsivantes de Aldrin na atividade geral de ratos observados em campo aberto. Além disso, descreveu-se a seqüência de sintomas que precedem as convulsões e/ou morte de animais intoxicados com o Aldrin, calculando-se as doses convulsivantes 50% e letal 50%.

MATERIAL E METODOS

Ratos Wistar machos (280-300g), de mesma linhagem, obtidos em nosso biotério através de cruzamentos sucessivos, foram alojados em número de três em gaiolas metálicas (16 x 30 x 18 cm), mantidas em salas com temperatura ambiente controlada (21-23°C) por meio de aparelhos de ar condicionado, em um ciclo de claro-escuro de 12 horas, com luz ligada às 7:00 horas.

O Aldrin foi dissolvido em Tween-80 e, posteriormente, suspenso em solução de NaCl 0,9%. A solução controle constituiu-se de uma suspensão de Tween-80 em NaCl 0,9%. Todos os animais foram injetados por via intraperitoneal.

Estudo da intoxicação aguda

Sessenta ratos foram divididos em seis grupos: cinco experimentais e um controle. Os animais dos grupos experimentais receberam diferentes doses de Aldrin (20, 30, 50, 55, 60, 70, 90 ou 120 mg/kg) e os do grupo controle 1,0 ml/kg da solução controle. Imediatamente após as injeções, os ratos foram colocados em caixas de paredes de vidro (30 x

15 x 15 cm), sendo observados por três horas consecutivas. Anotou-se o comportamento emitido pelo animal, o número de animais que apresentaram convulsões, o tipo e número de convulsões e o número de mortes.

As doses convulsivante e letal em 50% da população (DC50 e DL50 respectivamente) foram calculadas segundo método descrito por LITCHFIELD & WILCOXON, 12 (1949).

Estudo da atividade geral

A atividade geral dos ratos foi observada em um campo aberto construído segundo aquele descrito por BROADHURST, 3 (1960). Os parâmetros da atividade geral quantificados foram: frequência de locomoção (número de vezes que o animal penetra com as quatro patas em uma das divisões do chão da arena); frequência de levantar (número de vezes que o animal, apoiando-se sobre o trem posterior, ergue as patas anteriores); e duração de parado (tempo total em que o animal permanece imóvel).

Os ratos foram divididos em quatro grupos: três experimentais e um controle. Os animais dos grupos experimentais receberam, respectivamente, 10, 20 ou 30 mg/kg de Aldrin e os do grupo controle 1,0 ml/kg da solução controle. Imediatamente após essas injeções, cada rato foi introduzido individualmente no centro da arena do campo aberto, sendo os parâmetros de sua atividade geral quantificados por três minutos. Este procedimento foi repetido, para cada animal, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após administração do praguicida ou da solução controle. Para minimizar influências circadianas na atividade geral dos ratos, animais dos grupos controle e experimentais foram observados intercaladamente, sendo as observações realizadas no período da manhã, entre 8:00 e 12:00 horas. Após a observação de cada animal limpou-se a arena com uma solução de água-álcool 5%, para evitar que possíveis odores deixados por um animal interferissem com o comportamento do seguinte a ser observado.

Os dados obtidos para os animais dos diferentes grupos foram comparados através de uma análise de variância ANOVA (SNEDECOR, & COCHRAN, 15, 1946) seguida pelo teste de DUNCAN, 5 (1955). A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada capaz de revelar diferenças entre os grupos.

RESULTADOS

Estudo da intoxicação aguda

Os seguintes sintomas foram identificados, em seqüência de aparecimento, após a intoxicação dos animais com o Aldrin: incoordenação motora, diminuição da atividade motora, tremores musculares, contração da musculatura da região abdominal, salivação, pilo-ereção, movimentos buco-linguo-mastigatórios, imobilidade postural com "olhar fixo" e convulsões do tipo tônico-clônica. Esses episódios convulsivos, cujas latências aproximadas foram de 45 minutos, duraram no mínimo 20 minutos, podendo ser seguidos da morte do animal, a qual acontecia durante a convulsão ou durante a profunda depressão pós-ictal.

A Tab. 1 mostra a porcentagem de convulsão e de morte de ratos que receberam diferentes doses de Aldrin. Assim, observa-se um aumento dose-dependente da porcentagem de convulsão e de morte, à medida que se aumentou a dose do praguicida. Além disso notou-se, também, aumento na frequência e severidade das convulsões, quando do aumento da dose do praguicida.

A DC50 do Aldrin injetado intraperitonealmente foi de 52,0 mg/kg (47,3 - 57,2) e a DL50 foi de 60,5 mg/kg (46,2 - 79,3).

Estudo da atividade geral

As Fig. 1, 2 e 3 mostram os efeitos da administração de 10, 20 ou 30 mg/kg de Aldrin, respectivamente, nas frequências de locomoção e levantar e na duração de parado de ratos observados em um campo aberto. Assim, nota-se na Fig. 1 que as frequências de locomoção dos animais dos grupos que receberam 10 e 30 mg/kg de Aldrin diminuíram ($p < 0,05$) em relação àquela dos ratos do grupo controle na 1ª sessão de observação, realizada imediatamente após a administração do praguicida. Esta diferença permaneceu significativa na maioria das sessões para as três doses do praguicida até os 150 minutos de observação.

A Fig. 2 mostra que as frequências de levantar dos animais do grupo experimentais foram também menores ($p < 0,05$) que aquela do grupo controle, desde 0 até 120 minutos após a administração do praguicida.

Quanto à duração de parado, foi maior ($p < 0,05$) nos animais dos grupos experimentais em relação àquela do grupo controle aos 0,90 e 150 minutos de observação (Fig. 3).

TABELA 1 - Aparecimento de convulsão e morte de ratos que receberam diferentes doses de Aldrin, por via intraperitoneal.

Aldrin (mg/kg)	(n ^a)	% de convulsão	n ^o de convulsões/ rato	% de morte
20	5	0	-	0
30	5	20	-	20
50	5	40	-	0
55	5	60	2	20
60	20	85	-	70
70	5	100	3 ou +	80
90	10	100	-	80
120	5	100	5 ou +	100

(n^a) número de animais

DISCUSSÃO

Embora os praguicidas organoclorados sejam reunidos em um só grupo, estes apresentam entre si não só mecanismos de ações diferentes, como também produzem sintomas diversos de intoxicação. De fato, os derivados do DDT têm ações tanto periféricas como centrais de relevância; a combinação das mesmas é responsável pela hiperexcitabilidade, tremores, espasticidade, hipertermia e convulsões (ECOBICHON & JOY, 6, 1982).

Por outro lado, o sítio de ação primária dos praguicidas organoclorados ciclodienicos, como o Aldrin, é o Sistema Nervoso Central (JOY, 11, 1976; ECOBICHON & JOY, 6, 1982). A maioria dos vertebrados apresenta uma síndrome similar, quando intoxicados agudamente com esse grupo de praguicidas, a qual difere daquela apresentada pelo DDT, onde se observam tremores generalizados e abalos musculares, sendo a convulsão de natureza clônica (ECOBICHON & JOY, 6, 1982). Ao contrário, com os organoclorados ciclodienicos, os tremores são praticamente ausentes; o sintoma característico e mais importante da intoxicação é a convulsão tônico-clônica de extrema violência. A morte pode ocorrer durante a convulsão ou no período pós-ictal; a recuperação do animal pode ocorrer, mas os sintomas neurológicos parecem ser completamente reversíveis. Acrescenta-se, ainda, que a ação periférica dos praguicidas ciclodienicos é pouco importante, sendo necessárias doses muitas vezes superiores àquelas necessárias para produzir efeitos centrais para que se detectem efeitos em nervos periféricos, órgãos efetores ou sensoriais; mesmo assim, a causa primária da

intensificação da atividade nervosa é de origem central (ECOBICHON & JOY, 6, 1982).

Os presentes dados mostram não só o efeito central característico dos organoclorados ciclodienicos, ou seja a convulsão tônico-clônica, bem como a seqüência temporal de comportamentos que a precedem. Desta forma, nota-se que a severidade das convulsões aumenta com a dose administrada, efeito esse demonstrado pela maior freqüência e duração dos episódios convulsivos. Além disso, verifica-se que dentre os eventos comportamentais, pré-convulsivos ocorre uma diminuição na atividade motora dos animais, a qual pode ser quantificada no presente trabalho. Para tanto, utilizaram-se doses de Aldrin inferiores àquelas da DC50, permitindo a observação em campo aberto, sem a presença de convulsão, o que prejudicaria o desempenho dos animais nesse aparelho.

Locomoção e levantar são parâmetros da atividade geral de ratos relacionados com a função motora (BERNARDI & PALERMO NETO, 1, 1980; BERNARDI & PALERMO NETO, 2, 1980). Desta forma, a diminuição observada no presente trabalho, das freqüências de locomoção e levantar e concomitante aumento na duração de paradas sugerem que sistemas neurais envolvidos com a função motora estejam alterados. Dopamina e noradrenalina são os neurotransmissores centrais particularmente envolvidos com essa função (MASON, 13, 1984).

Nesse sentido, WAGNER & GREENE, 16 (1978) mostraram em ratos, que a administração aguda de Dieldrin produziu diminuição das concentrações cerebrais totais de noradrenalina e dopamina. Estes achados confirmam dados obtidos com outros praguicidas organoclorados como p-p'-DDT e α -clordane (HRDINA et

alii, 9, 1972; SHARMA, 14, 1973; HEINS et alii, 8, 1980). Desta forma, parece-nos possível sugerir que a diminuição da função motora, observada no presente experimento, após a administração aguda do praguicida, seja consequência de uma interferência do mesmo com os níveis cerebrais de catecolaminas e, assim, com a função motora. Por outro lado, sabe-se que o aumento ou diminuição nos níveis totais de catecolaminas reduz ou aumenta, respectivamente, os parâmetros convulsivos (JOBE et alii, 10, 1973; MASON, 13, 1984). Nesse sentido sugere-se que os sistemas catecolaminérgicos centrais estejam ligados ao espriamento da atividade elétrica neuronal concomitante ao fenômeno convulsivo.

Os sistemas neurais relacionados com a origem da convulsão são o colinérgico e o gabaérgico, sendo o primeiro excitatório e o segundo inibitório (GARATINI et alii, 7, 1978). Parece, no entanto, que os mesmos não estão envolvidos com as alterações motoras observadas no presente trabalho. De fato, COLE & CASIDA, 4 (1986) mostraram que apenas doses convulsivantes de Dieldrin foram capazes de alterar os níveis do Gaba, enquanto que doses não convulsivantes foram incapazes de fazê-lo.

Desta forma, provavelmente, a redução da atividade motora, observada no presente trabalho, após a administração aguda do Aldrin, pode ser consequência da redução dos níveis de catecolaminas centrais induzida por doses subconvulsivantes, representando, portanto, um evento pré-convulsivo.

BERNARDI, M.M.; PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H.S. Effects of Aldrin acute administration on open field behavior and seizure of rats. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 26(1):69-74, 1989.

SUMMARY: The acute symptoms of organochloride intoxication in rats were observed and described in details. In addition, it was study the effects of subconvulsivant doses of Aldrin (10, 20 or 30 mg/kg) on general activity of rats observed in an open-field. Thus, the following symptoms were observed after acute Aldrin intoxications: motor incoordination, decreased activity, muscular shakes, contractions of the muscles of the abdominal region, salivation and compulsive gnawing, postural immobility with "fixed eye" and tonic-clonic convulsions followed or not by rats death. The convulsant and lethal doses of Aldrin were, respectively, 52.0 mg/kg (47.3 - 57.2) and 60.5 mg/kg (46.2 - 79.3). It was possible also observed that both locomotion and rearing frequencies of rats treated with subconvulsivant Aldrin doses decreased in relation of the control animals; contrary, immobility duration was higher in the experimental animals treated with Aldrin. It was suggested that reduction in general activity was related to a decreased brain catecholamines levels induced by the pesticide

UNITERMS: Aldrin, Pesticides organochlorine; Convulsions; Catecholamines

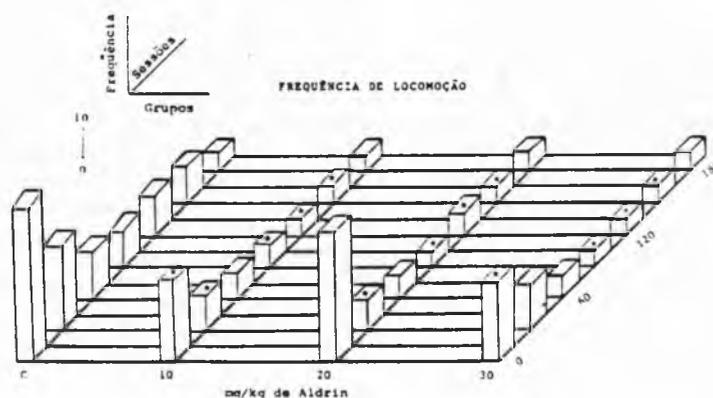


FIGURA 1 — Efeitos da administração ou não (grupo controle—C) de diferentes doses de Aldrin na frequência de locomoção de ratos observados em um campo aberto, a cada 30 minutos, por 180 minutos, após a injeção do praguicida.

* $p < 0,05$ em relação ao grupo C (Teste de Duncan)

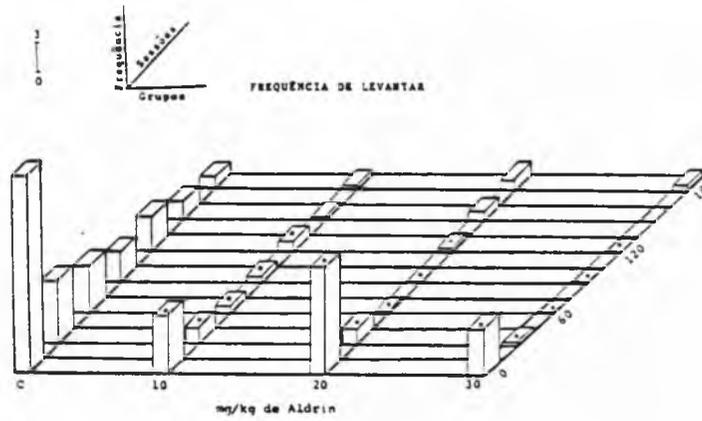


FIGURA 2 – Efeitos da administração ou não (grupo C) de diferentes doses de Aldrin na frequência de levantar de ratos observados em um campo aberto, a cada 30 minutos, por 180 minutos, após a injeção da praguicida.
 * $p < 0,05$ em relação ao grupo C (Teste de Duncan)

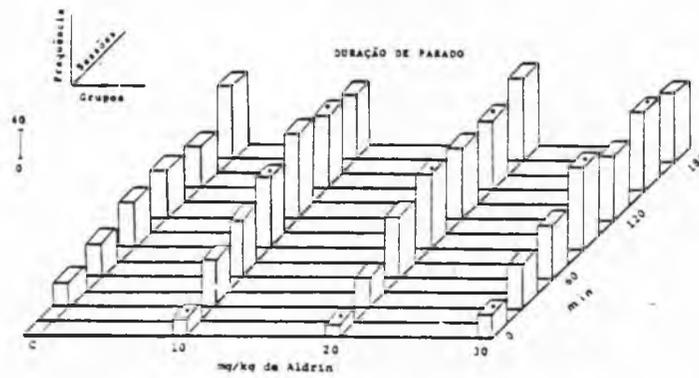


FIGURA 3 – Efeitos da administração ou não (grupo controle-C) de diferentes doses de Aldrin, na duração de parado, de ratos observados em um campo aberto a cada 30 minutos, por 180 minutos, após a injeção da praguicida.
 * $p < 0,05$ em relação ao grupo C (Teste de Duncan)

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - BERNARDI, M.M. & PALERMO NETO, J. Dopamina e função motora. *Ci. e Cult.*, 32:857-863, 1980.
- 2 - BERNARDI, M.M. & PALERMO NETO, J. Atividade geral: conceito e medidas. *Psicologia*, São Paulo, 6:43-55, 1980.
- 3 - BROADHURST, P.L. Experiments in psychogenetic. In: EISENCK H.J., ed. *Experiments in personality*. London, Routledge and Kegan, 1960.
- 4 - COLE, L.M. & CASIDA, J.E. Polychlorocycloalkane insecticide - induced convulsions in mice in relation to disruption of the GABA - regulated chloride ionophore. *Life Sci.*, 39:1855-1862, 1986.
- 5 - DUNCAN, D.B. Multiple range and multiple F-test. *Biometrics*, 11:1-42, 1955.
- 6 - ECOBICHON, D.J. & JOY, R.M. Pesticides and neurological diseases. Florida, CRC Press, 1982.
- 7 - GARATINI, S.; PUJOL, J.F.; SAMANIN, R. Interactions between putative neurotransmitters in the brain. New York, Raven Press, 1978.
- 8 - HEINS, G.H.; HILL, E.F.; CONTRERA, J.F. Dopamine and norepinephrine depletion in ring doves fed DDE, dieldrin and aroclor 1254. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 53:75-82, 1980.
- 9 - HRDINA, P.D.; SINGHAR, R.L.; PETERS, D.A.V.; LING, G.M. Comparison of the chronic effects of p-p'-DDT and α -chlordane on brain amines. *Europ. J. Pharmacol.*, 20:114-117, 1972.
- 10 - JOBE, P.C.; PICCHIONI, A.L.; CHIN, L. Role of brain norepinephrine in audiogenic seizure in the rat. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 184:1-10, 1973.
- 11 - JOY, R.M. Convulsive properties of chlorinated hydrocarbon insecticides in the cat central nervous system. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 35:95-106, 1976.
- 12 - LITCHFIELD JUNIOR, J.T. & WILCOXON, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 96:99-104, 1949.
- 13 - MASON, S.T. Catecholamines and behavior. Cambridge, Cambridge University Press, 1984.
- 14 - SHARMA, R.P. Brain biogenic amines: depletion by chronic dieldrin exposure. *Life Sci.*, 13:1245-1251, 1973.
- 15 - SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6.ed. Ames, Iowa State College Press, 1946.
- 16 - WAGNER, S.R. & GREENE, F.E. Dieldrin-induced alterations in biogenic amine content of rat brain. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 43:45-55, 1978.
- 17 - WEISS, B. Behavior as a measure of adverse responses to environmental contaminants. In: IVERSEN, L.L.; IVERSEN, S.D.; SNYDER, S.H. *Drugs, neurotransmitters and behavior*. New York, Plenum Press, 1984. p. 1-5. (Handbook of psychopharmacology, 18)

Recebido para publicação em 13/10/87
Aprovado para publicação em 22/09/88