

# EFEITOS FETOTÓXICOS DO ALDRIN EM FILHOTES DE 1ª E 2ª GERAÇÕES DE RATOS\*

VERA LÚCIA S.S. DE CASTRO\*\*  
JOÃO PALERMO NETO\*\*\*

Os organoclorados absorvidos pela mãe podem encontrar-se no feto ou no neonato, através da passagem pela placenta e pelo leite. Assim, procurou-se verificar se a administração de aldrin prejudicaria o desenvolvimento de filhotes de 1ª e 2ª gerações quando jovens (1-26 dias de vida) e adultos (90 dias). Os filhotes de ratas tratadas com 1.0 mg/kg de aldrin, s.c., durante a prenhez ou a lactação, tiveram seu desenvolvimento físico e neurocomportamental testado. Observou-se prejuízo em relação a descida dos testículos, erupção de dente incisivo e maturação neuromuscular (reflexos), mas não quanto ao peso. Não foram encontrados aldrin e/ou dieldrin no plasma dos filhotes aos 90 dias. Todavia, estes apresentavam maior locomoção e exploração em caixa de "hole-board". As fêmeas expostas apresentaram diminuição da taxa de viabilidade ao desmame (prenhez) mas não quanto a seu comportamento maternal. Desta forma, pode-se supor que ocorreram alterações que perdurariam pela vida dos animais.

## 1 INTRODUÇÃO

As sequelas neurais persistentes podem ocorrer após exposição prolongada ou por curtos períodos de tempo aos pesticidas. Muitas vezes, tais sequelas são precedidas e/ou ma-

\*Trabalho apresentado no I Seminário Brasileiro de Agrotóxicos. Curitiba, 27 a 29 de novembro de 1990.

\*\*EMBRAPA/CNPDA - Laboratório de Toxicologia.

\*\*\*USP - Depto. de Patologia.

há diversas evidências que mostram ser a exposição de organismos ainda imaturos, potencialmente mais severa que a de adultos, devido a maior suscetibilidade do sistema nervoso central (SNC) a insultos tóxicos. Alterações funcionais do SNC são produzidas por doses menores que aquelas necessárias a toxicidade física do neonato ou mesmo materna. Assim, alterações persistentes durante o desenvolvimento podem ser detectadas posteriormente em animais adultos através de teste comportamentais. Os inseticidas organoclorados, por serem lipossolúveis e passarem a barreira placentária, como também por estarem presentes no leite materno, prestam-se bem a este tipo de estudo. O objetivo do presente trabalho é verificar se níveis relativamente baixos de exposição ao aldrin, podem provocar alterações persistentes até a idade adulta em filhotes de ratos através de testes de avaliação de alguns parâmetros físicos e comportamentais.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Animais

Foram utilizados ratos wistar, mantidos em uma sala com temperatura controlada ( $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e com ciclo de luz artificial de 12 horas claro/12 horas escuro. O acesso a água e comida era livre.

### 2.2 Drogas

O aldrin (Atafog<sup>R</sup>-Shell Química do Brasil S.A.), foi diluído em solução salina NaCl 0,9% e Tween-80, sendo administrado por via subcutânea. Nos animais dos grupos controles foi aplicada solução salina NaCl 0,9% + Tween-80. O inseticida foi administrado às fêmeas durante a fase de prenhez (desde o achado de espermatozóides no lavado vaginal até o parto ou durante a lactação - os primeiros 21 dias de vida). Os machos e as fêmeas de 1ª geração não receberam qualquer tratamento.

Os testes foram realizados em animais de 1 e 2 gerações ( $F_1$  e  $F_2$ ) de igual forma.

### 2.3 Estudos do desenvolvimento físico e neurocomportamental

No primeiro dia de vida, foram deixados oito filhotes com cada fêmea. A partir daí, construiu-se curvas tempo-resposta para alguns parâmetros como: erupção do dente incisivo, abertura de olho e ouvido, descida dos testículos, valendo-se da porcentagem de animais que os apresentavam (6). Foi ainda observado o reflexo de endireitamento dos filhotes do 2º ao 5º dia de vida, e seu peso ao nascimento e ao desmame - Teste de Student -  $p < 0,05$  (11).

### 2.4 Estudos dos níveis plasmáticos de aldrin

Foi realizado após a extração de uma amostra de sangue dos animais testados. A extração do inseticida no plasma foi feita segundo o método de DALES & MILES (3) usando-se cromatografia gasosa com detector de captura de eletrons

### 2.5 Estudo do comportamento maternal

As ratas foram mantidas separadamente em gaiola com suas respectivas crias. Sem qualquer manipulação anterior, foi observado o comportamento da fêmea em relação seus filhotes de acordo com uma escala de escores (10), durante a lactação. Forneceu-se à rata papel picado para confecção do ninho, poucos dias antes do parto. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) (7).

### 2.6 Estudo da viabilidade dos filhotes

Foram calculadas as taxas de viabilidade:

Ao nascimento - número de filhotes natimortos em relação aos nascidos vivos x 100.

Ao desmame - número de filhotes desmamados em relação aos nascidos vivos x 100.

Foi utilizado o teste X2 ( $p < 0,05$ ) (11).

### 2.7 Estudo do comportamento exploratório em um "hole-board"

Foi utilizado para o registro do comportamento explo



ratório um "hole-board", baseado no descrito por FILE & WARDILL (4). Os parâmetros medidos foram locomoção, levantar, duração de parado, frequência e tempo de observação (na qual o animal adentra a cabeça no orifício do aparelho de forma que as orelhas aí desapareçam para a observação de objetos colocados embaixo do "hole-board"). Foi utilizado o teste "t" de Student ( $p < 0,05$ ) (11).

Cada sessão durou 10 minutos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição ao aldrin diminuiu a taxa de viabilidade ao desmame dos filhotes de  $F_1$ , de mães expostas durante a prenhez em 27,2%. A viabilidade dos filhotes ao nascimento não foi alterada. As fêmeas expostas ao aldrin não apresentaram diferenças quanto a seu comportamento maternal.

Diferentes processos fisiológicos do recém-nascido são controlados por aspectos da interação mãe-filho. A experiência prévia influencia o desenvolvimento comportamental de neonatos e animais jovens. A individualidade da mãe e a interação entre ela e sua ninhada contribuiriam para os padrões comportamentais na prole, influenciando a velocidade de maturação dos filhotes (5). Assim, a ausência de alterações, pelo menos mais evidentes do comportamento maternal, reforça a idéia de alterações na fisiologia dos filhotes causadas pelo inseticida.

Os filhotes de  $F_1$  e  $F_2$  tiveram seu desenvolvimento alterado principalmente no que se refere a adiantamento da erupção do dente incisivo e atraso na descida dos testículos, observados através de diferenças significativas entre  $TE_{50}$  dos animais dos grupos experimentais e controles (Tabela 1). Entretanto, não ocorreram diferenças no peso dos animais dos diversos grupos testados de  $F_1$  e  $F_2$  ao nascimento e ao desmame.

TABELA 1 - TEMPO EFETIVO 50% ( $TE_{50}$ ) DE ALGUNS PARÂMETROS DO DESENVOLVIMENTO FÍSICO E NEUROCOMPORTAMENTAL DE RATOS;  $p < 0,05$  (LITCHFIELD, 1949)

GRUPOS	Parâmetros							
	Aparecimento de penugem	Descolamento de orelha	Erupção do dente incisivo	Abertura do ouvido	Abertura de olho	Resposta de sobressalto	Reflexo de agarrar	Descida do testículo
(1)								
D $P_1$ C	3,1 (2,9-3,3)	2,8 (2,6-3,0)	6,6 (6,3-6,9)	13,6 (13,1-13,8)	13,9 (13,7-14,2)	13,5 (13,2-13,7)	7,0 (6,5-7,5)	21,0 (20,7-21,3)
D $P_1$ E	3,8 (3,7-4,0)	3,0 (2,8-3,2)	4,4 (4,1-4,8)	13,7 (13,4-13,9)	14,0 (13,8-14,0)	13,8 (13,6-14,0)	11,5* (11,0-12,0)	31,5* (31,2-32,0)
D $L_1$ C	3,1 (3,0-3,2)	2,9 (2,8-3,0)	6,4 (6,2-6,6)	13,0 (12,9-13,1)	13,8 (13,6-14,0)	13,1 (12,9-13,3)	7,3 (7,1-7,5)	20,1 (19,8-20,4)
D $L_1$ E	3,0 (2,8-3,1)	3,0 (2,9-3,1)	4,6* (4,4-4,8)	12,9 (12,7-13,0)	16,0* (15,8-16,2)	13,2 (12,6-13,8)	7,9 (7,4-8,5)	26,5* (26,2-26,8)
D $P_2$ C	2,7 (2,6-2,9)	2,9 (2,7-3,0)	6,6 (6,4-6,8)	13,5 (13,3-13,7)	13,7 (13,5-13,9)	13,5 (13,3-13,7)	7,0 (6,7-7,3)	20,5 (20,1-20,9)
D $P_2$ E	2,5 (2,4-2,6)	3,2 (3,0-3,3)	4,1* (3,9-4,2)	13,1 (12,9-13,3)	14,8* (14,5-15,1)	15,2* (14,7-15,7)	7,1 (6,4-7,8)	24,0* (23,2-24,6)
D $L_2$ C	2,9 (2,8-3,0)	2,8 (2,7-3,0)	6,5 (6,4-6,7)	13,4 (13,2-13,6)	13,9 (13,6-14,3)	13,5 (13,2-13,7)	7,1 (6,9-7,3)	20,7 (20,5-20,9)
D $L_2$ E	3,0 (2,8-3,2)	3,6* (3,4-3,9)	3,9* (3,7-4,0)	13,1 (12,9-13,3)	15,3* (14,9-15,6)	14,6* (14,1-15,2)	7,5 (7,1-8,0)	23,4* (22,7-24,2)



O Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) tem sido envolvido na embriogênese, na interação de receptores de hormônios e no desenvolvimento fetoplacentário. Em embriões de camundongo, o desenvolvimento dentário começa entre o 9º e o 11º dia de prenhez e a resposta de estimulação ou inibição aos fatores de crescimento em cada estágio determinam o desenvolvimento normal do dente (8). Mudanças nos níveis de EGF podem explicar as alterações observadas aqui, na erupção dos dentes incisivos.

O desenvolvimento neurológico do cérebro de ratos pode ser avaliado através de alguns reflexos (1). O aldrin, administrado durante a prenhez ou a lactação, alterou este desenvolvimento já que foi observada maior latência para que os animais voltassem a posição anterior (Tabela 2).

TABELA 2 - LATÊNCIA EM SEGUNDOS PARA O REFLEXO DE ENDIREITAMENTO DE FILHOTES DE RATOS EXPOSTOS AO ALDRIN COM 2 A 5 DIAS DE VIDA. SÃO APRESENTADAS AS MÉDIAS E OS RESPECTIVOS DESVIOS PADRÕES; TESTE "t" DE STUDENTE  $p < 0,05$

DIAS DE VIDA	GRUPOS							
	DP1 <sub>C</sub>	DP1 <sub>E</sub>	DL1 <sub>C</sub>	DL1 <sub>E</sub>	DP2 <sub>C</sub>	DP2 <sub>E</sub>	DL2 <sub>C</sub>	DL2 <sub>E</sub>
2º	8,09 +6,30	17,66* +19,32	9,21 +7,10	19,14 +21,36	10,25 + 8,50	14,33 +11,23	9,20 +6,33	11,70 + 9,80
3º	7,20 +6,58	17,61* +21,88	7,90 +6,77	14,30* +10,40	6,33 + 5,04	13,26* +10,42	7,75 +6,86	11,55 +10,05
4º	3,30 +1,24	13,62* +15,07	3,20 +0,54	9,01* +10,64	3,24 + 1,08	12,24* +12,40	3,00 +0,25	9,80* + 9,50
5º	2,50 +1,00	8,78* + 9,31	2,07 +1,03	5,00* + 4,15	2,32 + 1,82	5,64* + 5,86	2,00 +1,00	4,84* + 4,12

Os animais de F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> dos grupos experimentais testados tiveram sua locomoção, frequência e tempo de observação aumentados em relação aos dos respectivos grupos controle, as-

sim como uma diminuição da duração da observação. O aumento do levantar em F<sub>2</sub>. Os dados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 - EFEITOS DO ALDRIN NA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO DE RATOS EM UM "HOLE-BOARD" AOS 90 DIAS DE IDADE. SÃO APRESENTADAS AS MÉDIAS E OS RESPECTIVOS DESVIOS PADRÕES DE CADA GRUPO; TESTE "t" DE STUDENT -  $p < 0,05$

PARÂMETROS	GRUPOS							
	DP1 <sub>C</sub>	DP1 <sub>E</sub>	DL1 <sub>C</sub>	DL1 <sub>E</sub>	DP2 <sub>C</sub>	DP2 <sub>E</sub>	DL2 <sub>C</sub>	DL2 <sub>E</sub>
Locomoção	50,07 +15,30	103,00* +14,68	54,10 +11,07	93,67* +30,52	51,33 +12,68	88,83* +16,50	58,80 +12,55	99,33* +17,42
Levantar	20,00 +6,50	15,67 +7,15	17,40 +11,38	25,83 +11,48	14,88 +7,12	14,67 +5,54	18,85 +5,55	22,33 +9,56
1ª SESSÃO	Duração de Parado	148,20 +59,20	0,00* +0,00	150,00 +36,74	15,00* +36,74	126,80 +107,85	0,00* +0,00	137,45 +85,92
	Defecação	3,96 +2,30	3,17 +1,60	3,42 +1,50	0,87* +1,63	2,73 +1,76	2,33 +2,07	3,01 +1,17
2ª SESSÃO	Frequência de Observação	6,43 +1,45	17,00 +6,13	5,76 +2,04	12,33* +2,34	6,27 +2,35	9,83 +3,37	6,50 +1,63
	Tempo de Observação	18,34 +8,64	46,67* +15,38	21,30 +7,90	44,83* +8,18	17,56 +10,25	22,67 +9,54	32,00 +10,05

Pode-se supor, então, que o aldrin causaria mudanças sutis na circuitaria neuronal em períodos cruciais no desenvolvimento do conceito. Da mesma forma, a ausência de níveis plasmáticos nos animais quando adultos, corrobora com esta hipótese, já que os mesmos apresentaram alterações comportamentais.

A inibição da síntese de testosterona e/ou alterações em seu metabolismo podem estar relacionadas ao efeito indutor de enzimas do inseticida (9). Entretanto, o comportamento no "hole-board" é dependente de sistemas noradrenérgicos e dopaminérgicos (2).



Mudanças em gonadotrofinas refletiriam interação alterada entre sistemas catecolaminérgicos e níveis hormonais, desde que os animais mostraram uma exploração maior quando testados.

As mudanças sutis na circuitaria neuronal dar-se-iam então a nível catecolaminérgico e sua interação com níveis hormonais. Tais mudanças perdurariam pela vida do animal.

#### ABSTRACT

The central nervous system is especially susceptible to toxic results during development. The cyclodiene insecticide, aldrin, can cross the placental barrier and be present in the milk. The aim of the present study was to evaluate the impact of aldrin low doses exposition on some physical and behavioral parameters of rats, not only when pups but also in adult age (90 days-old). The female rats were treated with 1.0 mg/kg of aldrin until the delivery or during the lactation. The female - F<sub>1</sub> - was mated without treatment, to obtain the 2<sup>nd</sup> generation, F<sub>2</sub>. Results showed that aldrin contamination was able to decreased the median effective time (TE<sub>50</sub>) of the incisor eruption and to increased the TE<sub>50</sub> for tests descent in pup rats. It was observed a decreased in the viability during the lactation of the pregnancy females aldrin treated pups. Experimental animals showed an enhanced exploratory behavior at 90 days old. No differences were observed between control and experimental rats in relation to maternal behavior. It was no possible to detect plasmatic levels of aldrin or its metabolite dieldrin in adult age. It was concluded that aldrin exposure was able to induce physical and persistent behavioral alterations.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 ALDER, S. Behavioral teratology. In: ZEINDEN, Q., RACAGNI, G., WOMO, V., WEISS, B. Application of Behavioral Pharmacology in Toxicology. New York: Raven Press, 1983, p. 57-66.
- 02 BARDO, M., BOWLING, S., PIERCE, R. Changes in locomotion and dopamine neurotransmission following amphetamine, haloperidol, and exposure to novel environmental stimuli. Psychopharmacology, v. 101, p. 338-343, 1990.
- 03 DALE, W., MILES, J. Quantitative method for determination of DDT and DDT metabolites in blood serum. Journal of AOAC, v. 53, p. 1287-1292, 1970.
- 04 FILE, S. WARDILL, A. Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board. Psychopharmacology, v. 44, p. 53-59, 1975.

- 05 FRAVKOVA, S. Neurochemical. Defecatory rat selected for high and low activity and defecation rates. Activ. Nerv. Sup., v. 27, p. 186-198, 1985.
- 06 LITCHFIELD, J. A method for rapid graphic solution of time-percent effect curves. J. Pharmacol. Exp. Ther., v. 97, p. 399-408, 1949.
- 07 MANN, H., WHITNEY, D. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. Am. Meth. Statist., v. 18, p. 50, 1947.
- 08 PARTANEN, A. Epidermal growth factor and transforming growth factor -  $\alpha$  in the development of epithelial-chymal organs of the mouse. In: Nilsen-Hamilton, M. Growth Factors and Development. New York: Academic Press, p. 31-56, 1990.
- 09 PINES, A., CUCOS, S., EVER-HADANI, P., RON, M. Some organochlorine insecticide and polychlorinated biphenyl blood residues in infertile males in the general israeli population of the middle 1980's. Arch. Environ. Contam. Toxicol., v. 16, p. 587-597, 1987.
- 10 SÖDERSTEN, P., ENEROTH, P. Effects of exposure to pups on maternal behaviour, sexual behavioral and serum prolactin concentrations in male rats. J. Endocr. V. 102, p. 115-119, 1984.
- 11 SPIEGEL, M. Statistics. New York: Schum Pub., 1972.