

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Avaliação in vivo da hepatotoxicidade do imidacloprido

Fernanda Leão Kechinski

Porto Alegre, novembro de 2020.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Avaliação in vivo da hepatotoxicidade do imidacloprido

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia apresentado a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob a orientação do Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo e co-orientação da Farmacêutica Bruna Ducatti Tonietto para obtenção do título de Farmacêutica.

Porto Alegre, novembro de 2020.

APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi elaborado na forma de artigo a fim de ser submetido à revista *Pesticide Biochemistry and Physiology*.

As normas para publicação de trabalhos encontram-se em anexo.

Avaliação in vivo da hepatotoxicidade do imidacloprido

In vivo hepatotoxicity assessment of imidacloprid

Fernanda Leão Kechinski¹, Bruna Ducatti Tonietto^{2,3}, Marcelo Dutra Arbo^{2,3*}

1. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, Bairro Azenha, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS.

2. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS.

3. Laboratório de Toxicologia - LATOX, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua São Luís, 150, 90620-170, Porto Alegre, RS.

* Correspondent author: marcelo.arbo@ufrgs.br

HIGHLIGHTS

Imidacloprido administrado por 45 dias consecutivos não alterou os níveis de tióis totais não proteicos e lipoperoxidação no fígado.

Imidacloprido, após 45 dias de tratamento, alterou a atividade da transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e da transaminase glutâmico-pirúvica (TGP).

Os possíveis danos hepáticos causados pela administração subcrônica de imidacloprido parece não estar relacionado com estresse oxidativo.

RESUMO

O imidacloprido é um inseticida da classe dos neonicotinóides amplamente empregado para prevenção e controle de insetos nocivos em diversos setores da agricultura e na saúde pública. O presente estudo avaliou a hepatotoxicidade em ratos machos Wistar após tratamento subcrônico de 45 dias com imidacloprido, através de análise macroscópica, bioquímica e de marcadores de estresse oxidativo. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=5/grupo) e tratados via oral com imidacloprido nas doses de 1,5 mg/kg, 5 mg/kg e 15 mg/kg, sendo o grupo controle tratado com água destilada. Após o período de tratamento, os animais foram eutanasiados e sangue e fígado foram coletados para avaliação de biomarcadores de hepatotoxicidade. Na análise macroscópica não houve diferença significativa na aparência, cor, formato, consistência e massa relativa do fígado ($p > 0,05$; ANOVA), também não foram observadas lesões aparentes. A análise bioquímica demonstrou aumento significativo ($p < 0,05$, ANOVA/Bonferroni) na atividade da transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) nas doses de 1,5 mg/kg, 5 mg/kg e 15 mg/kg e na transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) na dose de 5 mg/kg, no entanto não foram observadas diferenças significativas na fosfatase alcalina (FAL) e na gama-glutamiltanspeptidase (GGT) em nenhum grupo. Também não foram encontradas alterações nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e tióis totais não proteicos ($p > 0,05$; ANOVA). Os achados demonstraram que o tratamento subcrônico com imidacloprido sugere toxicidade hepática, entretanto, nas doses testadas, o mecanismo de toxicidade não está aparentemente relacionado ao estresse oxidativo. São necessários mais estudos para elucidar os mecanismos relacionados à hepatotoxicidade do imidacloprido.

Unitermos: hepatotoxicidade, imidacloprido, TBARS, tióis totais, toxicidade subcrônica

ABSTRACT

Imidacloprid is a neonicotinoid insecticide widely used for the prevention and control of harmful insects in agriculture and public health. The present study evaluated the imidacloprid hepatotoxicity in male Wistar rats after a 45-day subchronic treatment through macroscopic, biochemical and oxidative stress biomarkers analysis. The animals were divided into 4 groups (n=5/group) and treated orally with imidacloprid at doses of 1.5 mg/kg, 5 mg/kg and 15 mg/kg. The control group received distilled water. After the treatment, blood and liver were collected for the evaluation of hepatotoxicity biomarkers. In the macroscopic analysis, there were no significant differences in appearance, color, shape, consistency and relative mass of the liver ($p > 0.05$; ANOVA). In addition, no apparent lesions were observed. Biochemical analysis showed a significant increase ($p < 0.05$, ANOVA/Bonferroni) in the activity of glutamic-oxalacetic transaminase (TGO) at doses of 1.5 mg/kg, 5 mg/kg and 15 mg/kg and in glutamic-pyruvic transaminase (TGP) at the dose of 5 mg/kg, however there were no significant differences in alkaline phosphatase (FAL) and gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) in any group. The analysis of oxidative stress biomarkers did not show any significant differences in thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and total non-protein thiols ($p > 0.05$; ANOVA). The findings demonstrate that subchronic treatment with imidacloprid suggests liver toxicity, however, under our experimental conditions, the toxicity mechanism seems to be not related to oxidative stress. Further studies are needed to elucidate the mechanisms related to the imidacloprid hepatotoxicity.

Keywords: hepatotoxicity, imidacloprid, TBARS, total thiols, subchronic toxicity

1. Introdução

Agrotóxicos são produtos químicos desenvolvidos com a finalidade de prevenir, remover ou exterminar pragas, sendo amplamente utilizados para proteger plantações na agricultura e para combater vetores de doenças na saúde pública (KIM et al., 2017; WHO, 2020). No Brasil, em 2018, foram comercializadas 549.280,44 toneladas de ingrediente ativo de agrotóxicos segundo relatório do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A comercialização no estado do Rio Grande do Sul representa 11,66% deste total, correspondendo a 64.069,29 toneladas. As classes de agrotóxicos com maior comercialização são herbicidas, representando 61,69% do total, seguidos por fungicidas com 13,35% e inseticidas com 10,43%.

Dentre os inseticidas, os neonicotinóides constituem uma das classes mais relevantes e eficazes, obtendo registro em mais de 120 países e com utilização em cerca de 140 cultivos (NAUEN et al., 2008; JESCHKE et al., 2011). Os neonicotinóides são aplicados para diferentes fins abrangendo a agricultura, horticultura, silvicultura, piscicultura, fruticultura e medicina veterinária (NAUEN et al., 2008; SIMON-DELSO et al., 2015). Atualmente, estão disponíveis no mercado sete compostos neonicotinóides: imidacloprido, nitempiram, acetamiprido, tiametoxam, tiacloprido, clotianidina e dinotefurano. O imidacloprido (Bayer CropScience), lançado em 1991, foi o primeiro representante da classe. Este foi sucedido pelo nitempiram (Sumitomo Chemical Takeda Agro Co.) e o acetamiprido (Nippon Soda) em 1995. O tiametoxam (Syngenta) foi introduzido ao mercado em 1998, seguido pelo tiacloprido (Bayer CropScience) em 2000 e pela clotianidina (Sumitomo Chemical Takeda Agro Co./Bayer CropScience) em 2001. Por fim, em 2002, foi apresentado o dinotefurano (Mitsui Chemicals), sendo este o último representante da classe a ser lançado (JESCHKE et al., 2011; BASS et al., 2015).

Em 2009, a comercialização de imidacloprido movimentou o montante de US\$ 2,632 bilhões de dólares, correspondendo a aproximadamente 41,5% de todo o comércio de neonicotinóides (JESCHKE et al., 2011). Em 2012 a

comercialização de imidacloprido, tiametoxam e clotianidina foi responsável por quase 85% do total de vendas de neonicotinóides. No ano de 2014, baseado em vendas totais de inseticidas, a participação de mercado dos neonicotinóides foi superior a 25% (BASS et al., 2015). Em 2018, foi o oitavo ingrediente ativo de agrotóxico mais comercializado no Brasil com o total de vendas de 10.021,22 toneladas (IBAMA, 2018).

O imidacloprido [1-(6-cloro-3-piridinilmetil)-N-nitroimidazolidim-2-ilideneamino] (Fig.1) dispõe de uso permitido em diversos cultivos no Brasil, sendo utilizado em sementes de algodão, cevada, aveia, amendoim, feijão, arroz, girassol; na aplicação foliar de alho, banana, batata, cebola, cenoura e no tronco de café, mamão, pêsego, uva (ANVISA, 2015). No entanto, teve sua utilização proibida em países da Europa como Itália, Alemanha e França devido à hipótese de relação com a mortalidade elevada de abelhas e do Distúrbio de Colapso de Colônia (CCD) (HENRY et al., 2012; BÚRIGO et al., 2015).

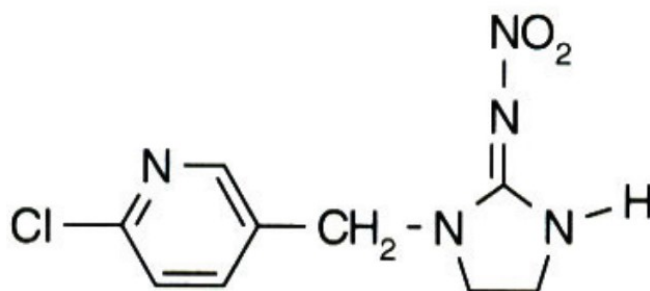


Figura 1. Fórmula estrutural do imidacloprido. Fonte: ANVISA, 2015

O imidacloprido é agonista de receptores nicotínicos pós-sinápticos (nAChRs) (TOMIZAWA & YAMAMOTO, 1993; TOMIZAWA & CASIDA, 2003, 2005, 2011), sendo 565 vezes mais específico para receptores nAChRs de insetos em relação ao de mamíferos e outras espécies vertebradas, em particular pelo nAChRs do subtipo $\alpha 4\beta 2$ (CHAO & CASIDA, 1997; ZHANG et al., 2000; TOMIZAWA & CASIDA, 2005; SIMON-DELSO et al., 2014). Além disso, a seletividade do imidacloprido por receptores de insetos é ainda maior do que outras classes de agrotóxicos como por exemplo metilcarbamatos, organofosforados e organoclorados. Há relatos de toxicidade relativamente

baixa em mamíferos, demonstrando uma significativa margem de segurança (TOMIZAWA & CASIDA, 2005; SHEETS, 2010) devido a sua baixa penetração pela barreira hematoencefálica de mamíferos (YAMAMOTO et al., 1995; SHEETS, 2010).

No entanto, estudos realizados com imidacloprido demonstraram a existência de toxicidade em animais, tais como ratos (KAPOOR et al., 2014; LONARE et al., 2014; AHMED & NASR, 2015; MAHAJAN et al., 2018), camundongos (ARFAT et al., 2014), peixes-zebra (CROBSY et al., 2015), lagartos (WANG ET al., 2018) e frango de postura (KAMMON et al., 2010). Há ainda relatos de intoxicação em seres humanos em razão de exposição ocupacional (AGARWAL & SRINIVAS, 2007) e por tentativas de suicídio (SHADNIA & MOGHADDAM, 2008; RH, 2017).

O fígado é um órgão que exerce diversas funções vitais, em razão de seu intermédio entre a circulação geral do organismo e o trato gastrointestinal (GUILLOUZO, 1998). Desempenha importante papel na síntese de macromoléculas, armazenamento de ferro e vitaminas A, D e B12, excreção e degradação hormonal, além de participar ativamente em processos de biotransformação, convertendo xenobióticos hidrofóbicos em compostos mais hidrossolúveis, facilitando sua eliminação pela bile ou rins. A função metabólica do fígado o torna um órgão alvo para danos causados pelo estresse oxidativo, decorrente da formação de espécies reativas durante o processo de metabolismo de substâncias (NELSON, 1990; GUILLOUZO, 1998, SCHINONI, 2006). Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a hepatotoxicidade do imidacloprido em ratos, após tratamento subcrônico.

2. Materiais e Métodos

2.1 Animais e Tratamento

Foram utilizados 20 ratos Wistar, machos, adultos (60 dias) oriundos do Centro de Reprodução e Experimentação de Animal de Laboratório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CREAL – UFRGS). Os animais foram alojados em ambiente com temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade monitoradas, com ciclo claro/escuro de 12h (7h – 19h) e tendo livre acesso a alimento e água. O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (CEUA-UFRGS) sob o número 37572.

As suspensões para o tratamento foram preparadas a partir do produto comercial Much 600 (600 g/L) produzido pela Albaugh Agro Brasil Ltda que contém como princípio ativo o imidacloprido. O tratamento oral foi administrado por 45 dias consecutivos por gavagem. As doses foram definidas baseadas no trabalho de KAAPOR et al. (2010), que definiu a maior dose em que não se observam efeitos (NOEL) do imidacloprido em 10 mg/kg.

Os animais foram divididos em 4 grupos sendo um grupo controle que recebeu água destilada e três grupos que receberam imidacloprido nas seguintes doses: 1,5 mg/kg, 5 mg/kg e 15 mg/kg. Após 45 dias de tratamento, foi realizada eutanásia com injeção intraperitoneal de cetamina (50 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), seguida de exsanguinação. O sangue foi coletado da veia cava e transferido para tubo de coleta com ativador de coágulo, que foi centrifugado a 1500 rpm por 10 minutos para obtenção do soro. Os fígados foram removidos, limpos de tecidos adjacentes, pesados, acondicionados em criotubos e congelados em -80°C até análise de parâmetros de estresse oxidativo.

2.2 Análise Macroscópica do Fígado

O fígado foi analisado quanto a forma, coloração, tamanho, consistência e presença de lesões visíveis. A massa relativa do fígado foi calculada com a seguinte fórmula: massa relativa = massa do órgão/massa do animal x 100,

sendo a massa corporal do animal no dia da eutanásia e do fígado após sua excisão e limpeza.

2.3 Análises Bioquímicas

Os marcadores bioquímicos de função hepática transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), fosfatase alcalina (FAL) e gama-glutamiltanspeptidase (GGT) foram quantificados em soro, no mesmo dia da coleta, utilizando kits comerciais (Bioclin[®], MG, Brasil) em aparelho automatizado BS-120 (Mindray Co., Shenzhen, China).

2.4 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Amostras de fígado foram pesadas e homogeneizadas em tampão Tris-HCl 50mM pH 7,4 na proporção 1:10 e centrifugadas por 10 minutos a 4°C a 1500 rpm. Um volume de 200 µL do sobrenadante foi adicionado em tubo contendo 1100µL ácido fosfórico 1% (H₃PO₄), 200µL lauril sulfato de sódio 8,1% (SDS), 20µL hidroxitoluenobutilado 10mM (BHT) e 500µL ácido tiobarbitúrico 0,6% (TBA). Em seguida os tubos foram dispostos em banho maria com agitação a 95°C por 1 hora. Após, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 532nm.

2.5 Determinação de Tióis Totais Não Proteicos

A técnica utilizada foi adaptada do método descrito por ELLMAN (1959). Amostras de fígado foram pesadas e diluídos na proporção de 1:10 em ácido perclórico 2,98% e centrifugadas por 10 minutos a 4°C a 1500rpm. Após a centrifugação, foi transferido 500µL de sobrenadante para outro eppendorf, adicionado 500µL de ácido tricloroacético 10% (TCA), homogeneizado e centrifugado novamente a 4000rpm por 10 minutos. Posteriormente 200µL de sobrenadante foram homogeneizados com 750µL de tampão fosfato de potássio 1M (pH 7,4) e 50µL de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico 10mM (DTNB) e por fim realizada a leitura em espectrofotômetro a 412nm.

2.6 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelo teste de análise de variância de uma via (ANOVA) seguidos do pós-teste de Bonferroni, prevendo um nível de significância 0,05. A distribuição normal de dados foi avaliada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados são apresentados em média \pm erro padrão. As análises foram realizadas no programa GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.) versão 5.0 para Windows.

3. Resultados

Quarenta e cinco dias após o tratamento com imidacloprido (Imi) nas concentrações de 1,5 mg/kg, 5 mg/kg e 15 mg/kg, não houve diferenças significativas na aparência, cor, formato, consistência e massa relativa do fígado ($p>0,05$; ANOVA) (figura 2), nem foram observadas lesões aparentes.

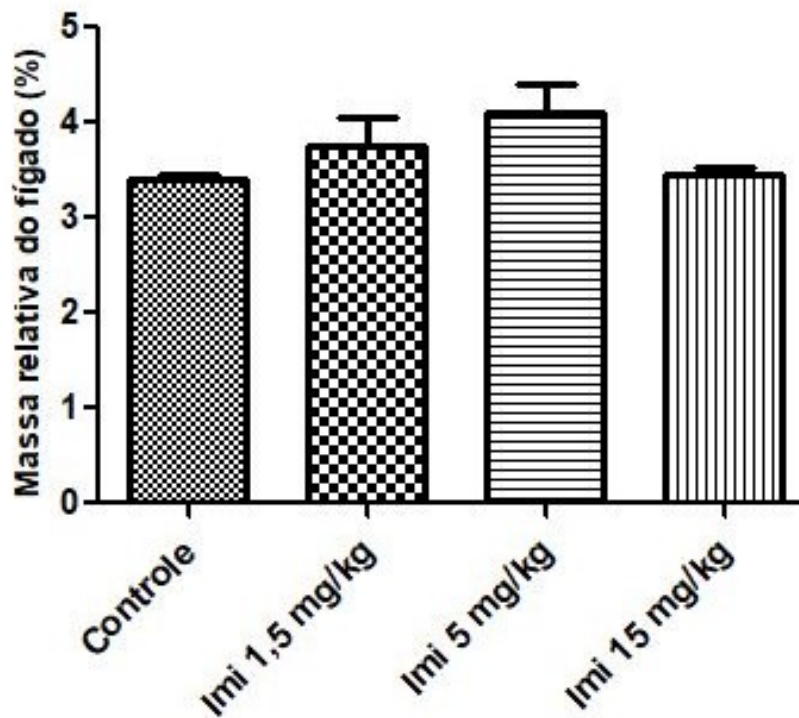


Figura 2. Peso relativo do fígado após 45 dias de tratamento com imidacloprido. Os valores são expressos em média \pm erro padrão ($n=5$). Dados analisados por ANOVA ($p>0,05$).

Os parâmetros bioquímicos analisados estão descritos na tabela 1 e demonstraram aumento significativo ($p<0,05$, ANOVA/Bonferroni) na atividade da TGO nas doses de 1,5 mg/kg, 5 mg/kg e 15 mg/kg e na TGP na dose de 5 mg/kg. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas na fosfatase alcalina (FAL) e na gama-glutamiltanspeptidase (GGT) em nenhum grupo.

Tabela 1. Parâmetros de função hepática após 45 dias de tratamento com imidacloprido. Os dados estão representados em média \pm erro padrão (n=5), *p<0,05, ANOVA/Bonferroni.

Grupos	Análises bioquímicas			
	TGO (U/L)	TGP (U/L)	FAL (U/L)	GGT (U/L)
Controle	79,60 \pm 2,84	53,20 \pm 2,97	85,80 \pm 2,89	5,60 \pm 1,17
Imi 1,5 mg/kg	112,0 \pm 7,15 *	69,00 \pm 8,53	98,60 \pm 4,95	5,00 \pm 2,00
Imi 5 mg/kg	110,6 \pm 10,18 *	102,8 \pm 16,78 *	98,20 \pm 5,52	4,80 \pm 1,90
Imi 15 mg/kg	113,2 \pm 4,56 *	90,80 \pm 5,76	100,6 \pm 4,18	8,00 \pm 1,05

Com relação ao estresse oxidativo, não foram encontradas diferenças significativas nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (figura 3) nem nos valores de tióis totais não proteicos (figura 4) (p>0,05; ANOVA).

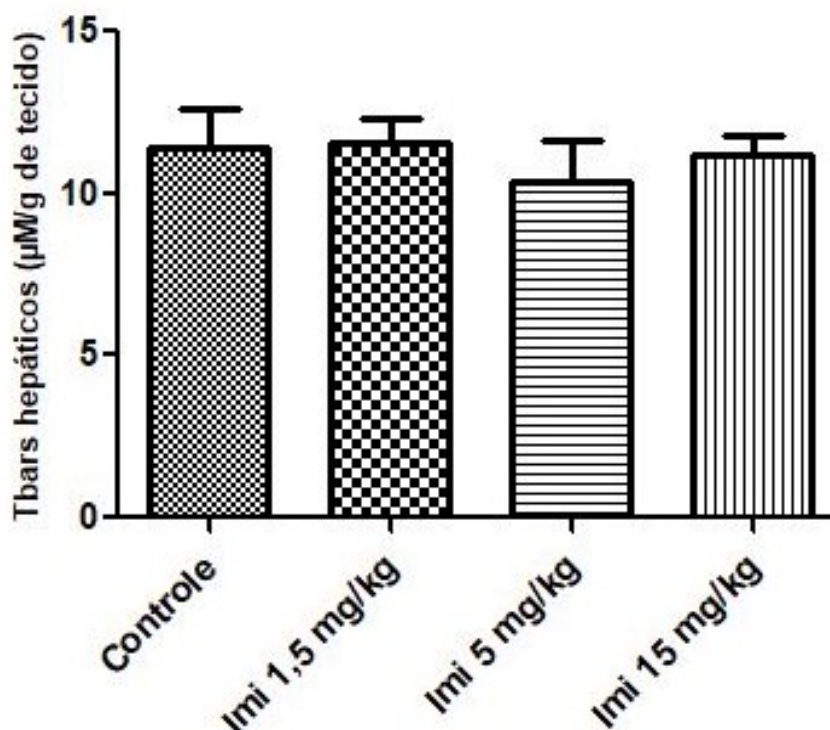


Figura 3. Nível de TBARS no fígado após 45 dias de tratamento com imidacloprido. As colunas representam média \pm erro padrão (n=5). Dados analisados por ANOVA (p>0,05).

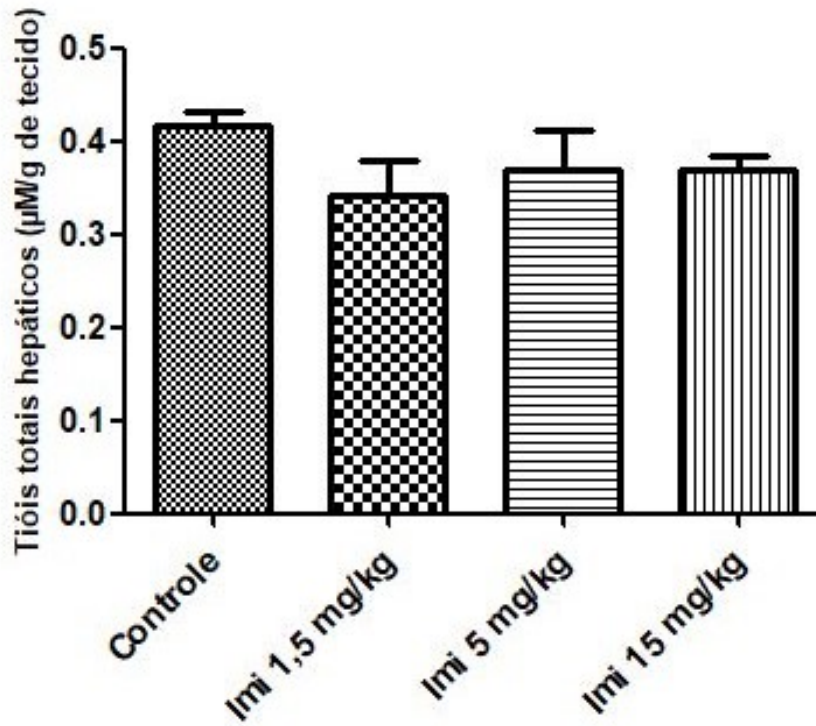


Figura 4. Tióis totais não proteicos hepáticos avaliado após 45 dias de tratamento com imidacloprido. As colunas representam média \pm erro padrão (n=5). Dados analisados por ANOVA ($p > 0,05$).

4. Discussão

A hepatotoxicidade é uma lesão ao fígado e corresponde a um problema importante na prática clínica, que representa cerca de 0,2% das internações hospitalares. Esta pode ser ocasionada por inalação, ingestão ou administração parenteral de produtos químicos ou medicamentos (MATOS & MARTINS, 2005). É de grande relevância a avaliação da lesão hepática induzida por xenobióticos, uma vez que se este problema não for reconhecido pode resultar em insuficiência hepática (STURGILL et al., 2011). No presente estudo, verificou-se que ratos tratados por via oral com imidacloprido apresentaram possível hepatotoxicidade após 45 dias consecutivos de tratamento.

Ratas fêmeas adultas (3 meses) tratadas via oral com o produto comercial Confidor, contendo 200 g/L de imidacloprido, nas doses de 10 mg/kg e 20 mg/kg por 60 dias não apresentaram diferença significativa na massa relativa do fígado (VOHRA et al., 2014), dados que estão em concordância com os achados do presente estudo. No entanto, estudo conduzido por CHAKROUN e colaboradores (2017) verificou aumento na massa relativa hepática de ratos machos adultos (4 meses) quando submetidos a tratamento oral com imidacloprido, obtido do produto comercial Confidor (200 g/L), na dose de 45 mg/kg durante 60 dias. Neste mesmo estudo, foi relatado edema em análise histopatológica de fígado justificando a razão do aumento da massa relativa. Tendo em vista os dados supracitados supõem-se que o aumento no peso relativo do fígado é dependente de tratamento com dose mais elevada e/ou de tratamento por período mais longo, justificando a ausência de resultados significativos nos grupos tratados considerando que a dose mais elevada utilizada foi de 15mg/kg.

O aumento de TGO e TGP indica extravasamento destas enzimas para a corrente sanguínea devido à ruptura de hepatócitos (CHAKROUN et al., 2017). Em relação à TGP, foi demonstrado aumento significativo na dose de 5 mg/kg, entretanto na dose de 15 mg/kg não foi observado elevação. Portanto, acredita-se que mecanismos compensatórios sejam ativados para reparo de danos causados por doses mais elevadas que 5mg/kg. Quando estes

mecanismos são ativados há um padrão de curva dose-efeito em U invertido (COOK & CALABRESE, 2006).

Estudo conduzido com ratos machos que foram tratados via oral com produto comercial contendo imidacloprido (80 mg/kg) com e sem coadministração de extrato de brócolis (200 mg/kg) e ácido ferúlico (20 mg/kg) durante 28 dias demonstrou aumento significativo na atividade sérica de TGO, TGP e FAL no grupo que foi tratado apenas com imidacloprido. Além disso, foram demonstradas mudanças significativas nos níveis hepáticos de glutathiona reduzida (GSH) e malonildialdeído (MDA). No entanto, a coadministração de extrato de brócolis ou ácido ferúlico com imidacloprido reduziu significativamente estes parâmetros, demonstrando efeito protetor (AHMED & NASR, 2015). Em estudo similar, BASGANDY e colaboradores (2010) trataram ratos machos por um período de 30 dias, no qual foi administrado imidacloprido (96% de pureza) via oral nas doses de 45mg/kg e 90mg/kg com ou sem coadministração de beta caroteno (20 mg/kg) e/ou hisperidina (100mg/kg). Os grupos tratados apenas com imidacloprido, em ambas as doses, demonstraram aumento significativo de TGO, TGP, FAL e GGT, e também decréscimo na concentração de GSH e acréscimo de MDA em tecido hepático. Entretanto, foi observado efeito protetor quando realizada a coadministração dos antioxidantes beta caroteno e hisperidina, além de efeito sinérgico protetor quando administrados em conjunto. Nos estudos de AHMED (2015) e BASGANDY (2010), foram constatados que o aumento sérico das enzimas hepáticas está relacionado a danos oxidativos ocasionados pelas altas doses de imidacloprido. No entanto, neste presente estudo, o aumento sérico da TGO e da TGP aparentemente não se encontra diretamente relacionado ao estresse oxidativo, visto que não houve alteração significativa de TBARS e tióis totais não proteicos nos grupos tratados com imidacloprido em comparação com o grupo controle. Este fato pode indicar que o extravasamento destas enzimas esteja possivelmente relacionado a outros mecanismos de dano aos hepatócitos.

KAPOOR e colaboradores (2010) realizaram estudo com ratas fêmeas adultas por um período de 90 dias, no qual o grupo tratado com 20 mg/kg de imidacloprido (96% de pureza) via oral observou aumento da lipoperoxidação

no fígado. Já no presente estudo não houve aumento significativo de TBARS nas doses testadas, demonstrando que não houve aumento da lipoperoxidação hepática. Em estudo realizado com ratos adultos, no qual foi administrado 16,9 mg/kg de imidacloprido via oral com e sem coadministração de arsênio nas doses de 50, 100 e 150 ppb durante 28 dias, foi demonstrado um aumento significativo na concentração hepática de MDA no grupo tratado com imidacloprido isoladamente quanto nos grupos com a coadministração de arsênio. A administração conjunta de imidacloprido e arsênio resultou em níveis ainda mais elevados de lipoperoxidação hepática em comparação a administração individual de imidacloprido (MAHAJAN et al., 2018).

A glutathiona reduzida (GSH) é o tiol (-SH) não proteico mais abundante do organismo, o qual desempenha função fundamental na proteção intracelular através da neutralização de moléculas reativas (DUZGUNER & ERDOGAN., 2009). No presente estudo, não houve alteração na concentração de tióis totais não proteicos no fígado, indicando que o inseticida não está consumindo as defesas antioxidantes do tecido. Em estudo conduzido por SOUJANYA e colaboradores (2013), ratos machos Sprague Dawley tratados por via oral com imidacloprido (80mg/kg) durante 14 e 28 dias apresentaram uma redução da concentração de GSH em ambos os tempos de tratamento. Entretanto, a suplementação de vitamina C (10mg/kg) demonstrou efeito protetor aos danos causados pelo imidacloprido ao tecido hepático. Este resultado justifica o fato de que, mesmo a dose mais elevada de 15 mg/kg de imidacloprido administrada aos animais neste presente estudo, não ocasionou diminuição na concentração de tióis totais não proteicos, pois a mesma é menos que 5 vezes menor que a dose administrada por SOUJANYA e colaboradores (2013). Em concordância, estudo realizado com ratas fêmeas tratadas via oral com imidacloprido (98% de pureza) durante 30 dias demonstrou uma diminuição significativa de glutathiona reduzida na dose de 38 mg/kg (LOHIYA et al., 2017). Estes resultados estão em concordância com os encontrados neste estudo, demonstrando que para ocorrer uma diminuição significativa de tióis totais não proteicos se faz necessário administrar uma dose maior que 15 mg/kg.

5. Conclusão

Os achados obtidos no presente estudo demonstram que o tratamento subcrônico com imidacloprido nas doses de 1,5 mg/kg, 5 mg/kg e 15 mg/kg alterou a atividade sérica de TGO e TGP, sugerindo uma possível hepatotoxicidade, que aparentemente não é resultado de danos oxidativos. Deste modo, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos relacionados à hepatotoxicidade do imidacloprido em baixas doses.

CONFLITO DE INTERESSES

Declarações de interesses: nenhum.

FINANCIAMENTO

Este estudo foi financiado pela FAPERGS (19/2551-0001900-9).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AGARWAL, R.; SRINIVAS, R. Severe neuropsychiatric manifestations and rhabdomyolysis in a patient with imidacloprid poisoning. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 25, n. 7, p. 844-845, 2007.

AHMED, M.; NASR, S. Protective Effect of Broccoli and Ferulic Acid on Imidacloprid-Induced Neurotoxicity in Rat. **The Egyptian Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 33, n. 1-2, p. 1-15, 2015.

ANVISA. Imidacloprido, 26 de agosto de 2020. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/113+%E2%80%93+Imidacloprido/9d08c7e5-8979-4ee9-b76c-1092899514d7>>.

ARFAT, T. et al. Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. **Toxicology Reports**, v. 1, p. 554-561, 2014.

BASHANDY, S. et al. Beta Carotene and Hesperidin Antioxidants Mitigate Hepatotoxic Effects of Imidacloprid in Male Rats. **Al-Azhar Bulletin of Science**, v. 28, b. Issue 1-C, p. 15-27, 2017.

BASS, C. et al. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 78-87, 2015.

BÚRIGO, A. C. et al. A crise do paradigma do agronegócio e as lutas pela agroecologia. Dossiê Abrasco: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015. Parte 4.

CHAKROUN, S. et al. Imidacloprid enhances liver damage in Wistar rats: Biochemical, oxidative damage and histological assessment. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 5, n. 12, p. 540-546, 2017.

COOK, R. CALABRESE, R. J. The importance of hormesis to public health. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 11, p. 1631-1635, 2006.

CROSBY, E. B. et al. Neurobehavioral impairments caused by developmental imidacloprid exposure in zebrafish. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 49, p. 81-90, 2015.

DUZGUNER, V.; ERDOGAN, S. Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, n. 1, p. 13-18, 2010.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 82, n. 1, p. 70-77, 1959.

GUILLOUZO, A. Liver cell models in in vitro toxicology. **Environmental Health Perspectives**, v. 106, n. SUPPL. 2, p. 511-532, 1998.

HENRY, M. et al. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. **Science**, v. 336, n. 6079, p. 348-350, 2012.

IBAMA. Relatório de comercialização de agrotóxicos, 8 de setembro de 2020. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#>>

JESCHKE, P.; NAUEN, R.; SCHINDLER, M. ELBERT, A. Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids. **Journal Of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 2897-2908, 2011.

KAMMON, A. M. et al. Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. **Veterinarski Arhiv**, v. 80, n. 5, p. 663-672, 2010.

KAPOOR, U. et al. Effect of imidacloprid on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in female rats to derive its no observed effect level (NOEL). **Journal of Toxicological Sciences**, v. 35, n. 4, p. 577-587, 2010.

KIM, K. H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 525-535, 2017.

CHAO, S.; CASIDA, J. E. Interaction of imidacloprid metabolites and analogs with the nicotinic acetylcholine receptor of mouse brain in relation to toxicity.

Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 58, n. 1, p. 77-88, 1997..

LOHIYA, A.; KUMAR, V.; PUNIA, J. S. Imidacloprid induced oxidative stress and histopathological changes in liver of rats. **Indian Journal of Animal Research**, v. 51, n. 3, p. 531-536, 2017.

LONARE, M. et. al. Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: A protective effect of curcumin. **Neurochemistry International**, v. 78, p. 122-129, 2014.

MAHAJAN, L. et al. Toxic effects of imidacloprid combined with arsenic: Oxidative stress in rat liver. **Toxicology and Industrial Health**, v. 34, n. 10, p. 726-735, 2018.

MATOS, L.; MARTINS, B. Hepatites tóxicas: revisão da literature. **Revista Da Sociedade Portuguesa De Medicina Interna**, v. 12, n. 4, p. 239-258, 2005.

NAUEN, R.; JESCHKE, P.; COPPING, L. In Focus: Neonicotinoid insecticides. **Pest Management Science**, v. 64, n. 11, p. 1081, 2008

NELSON, N. D. Molecular Mechanisms of the Hepatotoxicity Caused by Acetaminophen REACTIVE METABOLITE FORMATION General Metabolic Scheme. **Seminars in Liver Disease**, v. 10, n. 4, 1990.

RH, R. Self poisoning by Imicon – A case report. **Internacional Journal of Advances in Case Reports**, v. 4, n. 2, p. 64-67, 2017.

SCHINONI, M. I. Fisiologia Hepática Hepatic Physiology. N. 3, p. 5-9, 2006.

SHADNIA, S.; MOGHADDAM, H. H. Fatal intoxication with imidacloprid insecticide. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 26, n. 5, p. 634.e1-634.e4, 2008.

SHEETS, L. P. Imidacloprid: A Neonicotinoid Inseticide. **Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology**, cap. 95, p. 2055-2064, 2010.

SIMON-DELSO, Net al. Systemic insecticides (Neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 5-34, 2015.

SOUJANYA, S. et al. Evaluation of the protective role of vitamin C in imidacloprid-induced hepatotoxicity in male Albino rats. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v. 4, n.1, p. 63-67, 2017.

STURGILL; M. G.; LAMBERT, G. H. Xenobiotic-induced hepatotoxicity: Mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 8 SUPPL., p. 1512-1526, 1997.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticides: Highlights of a symposium on strategic molecular designs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 7, p. 2883 – 2886, 2011.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 339-364, 2003.

TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. NEONICOTINOID INSECTICIDE TOXICOLOGY: Mechanisms of Selective Action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 247-268, 2005.

TOMIZAWA, M.; YAMAMOTO, I. Structure-Activity Relationships of Nicotinoids and Imidacloprid Analogs. **Journal of Pesticide Science**, v. 18, n. 1, p. 91-98, 1993.

VOHRA, P.; KHERA, K. S.; SANGHA, G. K. Physiological, biochemical and histological alterations induced by administration of imidacloprid in female albino rats. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 110, n. 1, p. 50-56, 2014.

WANG, Y. et al. The metabolism distribution and effect of imidacloprid in chinese lizards (*Eremias argus*) following oral exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, n. June, p. 476-483, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Pesticides, 11 de setembro de 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/topics/pesticides/en/>>.

YAMAMOTO, I. et al. Molecular Mechanism for Selective Toxicity of Nicotinoids and Neonicotinoids. **Journal of Pesticide Science**, v. 20, n. 1, p. 33-40, 1995.

ZHANG, A. et al. Insect nicotinic acetylcholine receptor: Conserved neonicotinoid specificity of [3H]imidacloprid binding site. *Journal of Neurochemistry*, v. 75, n. 3, p. 1294-1303, 2000.