



Ação neurotóxica causada por dietilditiocarbamato sobre o conteúdo de zinco cerebral em peixe-zebra.

Emerson Santos da Silva

Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
(sr.emersonsantos@gmail.com)

INTRODUÇÃO

Dietilditiocarbamato (DEDTC) é um conhecido pesticida com propriedades quelantes de zinco (Zn) reativo. A exposição a esta substância pode conduzir a importantes mecanismos neurotóxicos, pois algumas sinapses possuem uma fração de Zn reativo. Dessa maneira a utilização de peixes-zebra pode ajudar a compreender melhor a toxicidade promovida pelo DEDTC, considerando que essa espécie possui um sistema nervoso central (SNC) com conhecida distribuição de Zn reativo.

MATERIAIS E METÓDOS

- Animais e exposição ao DEDTC: Peixes-zebra adulto (tipo selvagem) foram banhadas agudamente em DEDTC (0,2, 1, 5 mM) durante 1 h.
- Análise comportamental. Avaliação realizada durante a exposição e análise de vídeos gravados.
- Níveis de DEDTC no cérebro: DEDTC cerebral foi medido pelo método espectrofotométrico [5].
- Coloração histoquímica de Zn reativo: Com base no método de neo-Timm descrito para o cérebro de peixe-zebra [4].
- A análise de citometria de fluxo de células neurais marcadas com Zinpyr 1: Com base na sonda fluorescente de Zn intracelular (Zinpyr 1), este método foi realizado tal como descrito previamente [6].
- Atividade da δ -aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D): O ensaio de enzima foi baseada em trabalho anterior [7].

RESULTADOS

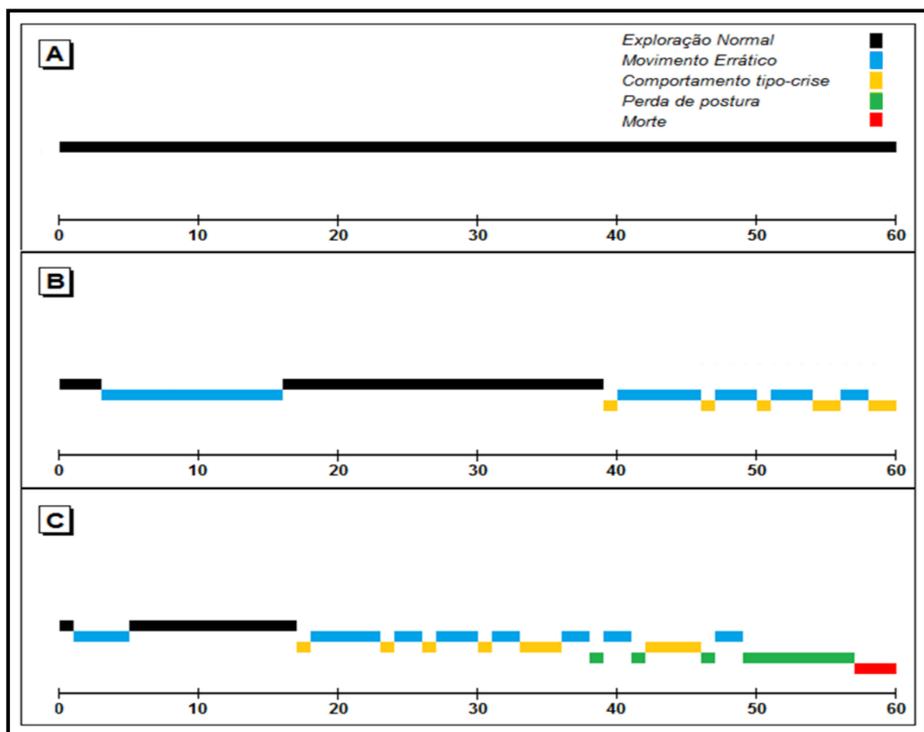


Figura 1. Representação das seqüências comportamentais desempenhadas pelos peixes ao longo de 60 min, sob diferentes doses de DEDTC. Animais expostos à 0,2mM mostraram um comportamento normal ao longo do tempo (A). DEDTC em 1mM produziu comportamentos tipo-crise ao final do teste (B). DEDTC 5 mM causou muitos comportamentos tipo-crise até a morte (C). As análises foram conduzidas cinco vezes para cada grupo.

Tabela 1. Níveis de DEDTC cerebrais após exposição ao composto.

[DEDTC] na água	[DEDTC] no cérebro (mg.kg ⁻¹)
0,2 mM	< 100
1 mM	113,8 ± 19,6
5 mM	960,2 ± 72,6

Os dados foram obtidos por três experimentos independentes cada um com 6 cérebros. Valores expressos como média ± EPM.

Tabela 2. Atividade cerebral da δ -ALA-D após exposição ao DEDTC.

[DEDTC] na água	Atividade da δ -ALA-D (nmol PBG.mg proteína ⁻¹ .h)
Controle	0,62 ± 0,05
0,2 mM	0,64 ± 0,04
1 mM	0,59 ± 0,03
5 mM	0,66 ± 0,04

Valores expressos como média ± EPM (n = 5).

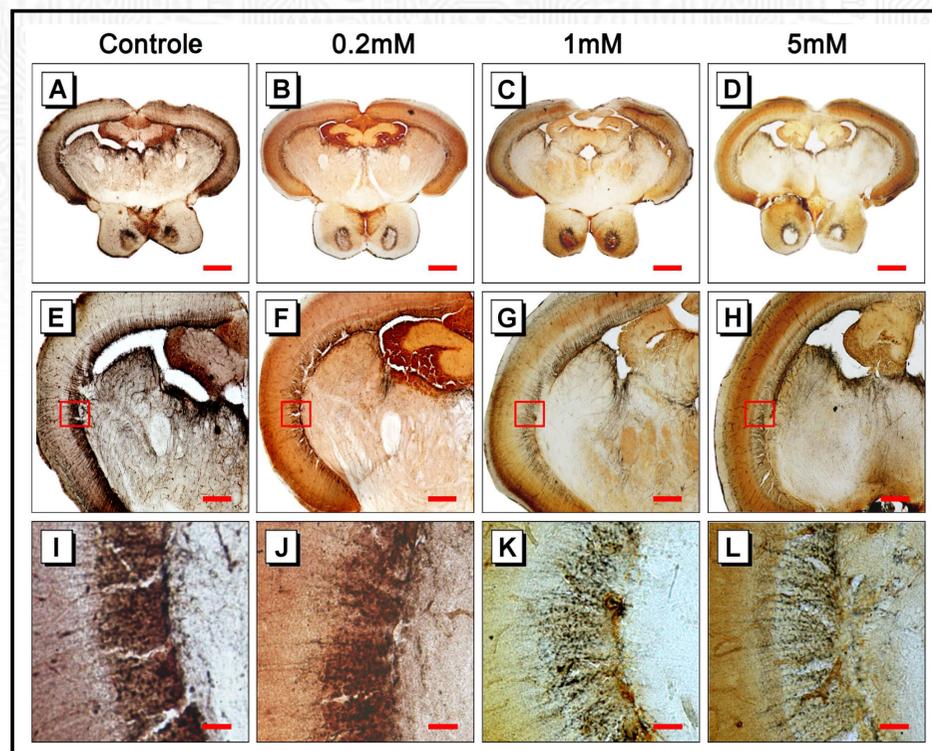


Figura 2. Marcação histoquímica de Zn reativo no teto óptico depois da exposição ao DEDTC (n = 4). Em maior aumento da área representada pelo quadrado vermelho (E, F, G e H), o conteúdo de Zn da zona periventricular cinza (I) é inalterado em 0,2 mM de DEDTC (J), enquanto ele é substancialmente diminuído em 1 (K) e 5mM (L). Barras representam 60 μ m nos painéis A-D, 200 μ m nos painéis E-H, e 400 μ m nos painéis I-L.

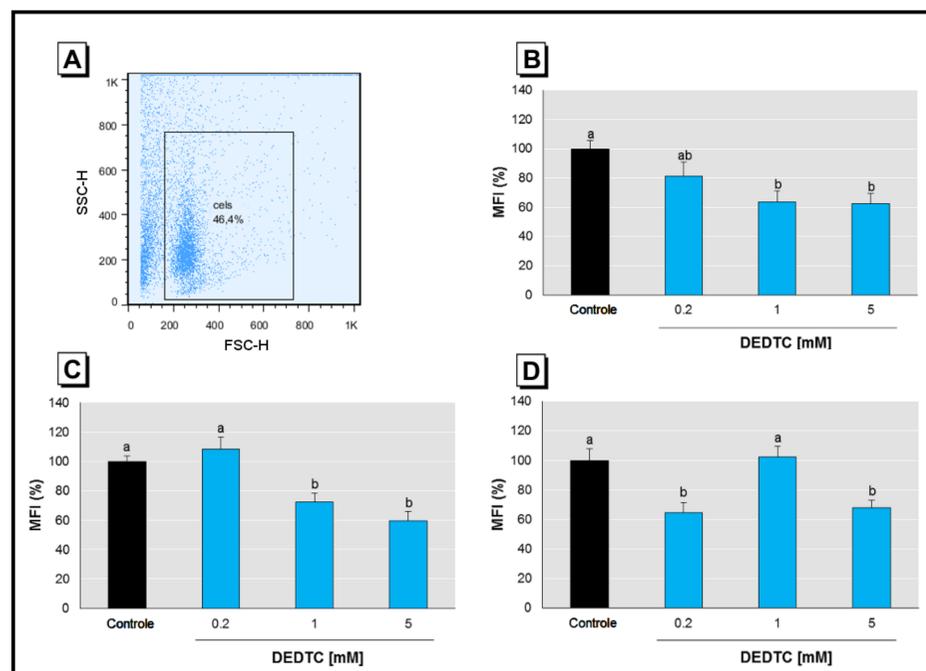


Figura 3. Medida do conteúdo de Zn reativo intracelular de células neurais por citometria de fluxo após exposição às doses de DEDTC. Representação de parcelas de dispersão lateral (SSC) e de dispersão para frente (FSC) das células do cérebro do peixe-zebra (A). Porcentagem de MFI de reatividade em neurônios glutamatérgicos (C). Porcentagem de MFI de Zn reativos em astrócitos (D). As análises foram conduzidas de 6-8 vezes para cada grupo e os valores estão apresentados como porcentagem média em relação para o controle ± EPM. Letras distintas indicam diferenças estatísticas ao nível de $p < 0,05$ (ANOVA seguido por teste de Tukey).

CONCLUSÃO

- Doses utilizadas em investigações terapêuticas de DEDTC podem causar alterações comportamentais ou até mesmo a morte em peixe-zebra. Entre as mudanças comportamentais foram observados comportamentos tipo-crise, suportando os cuidados com o uso terapêutico de DEDTC.
- As alterações comportamentais foram associadas com o acúmulo cerebral de DEDTC e a alteração nos níveis de Zn reativo de astrócitos e, principalmente, de neurônios glutamatérgicos.
- Entretanto, a fração de Zn cerebral fortemente associada com biomoléculas parece não ter sido afetada por DEDTC, dado a manutenção da atividade da δ -ALA-D.
- Além disso, poucos efeitos adversos foram observados em 0,2 mM, o que poderia apoiar futuras aplicações terapêuticas de DEDTC.

REFERÊNCIAS

1. Rehni et al. Canadian Journal of physiology and pharmacology 87 (2009) 63-68.
2. Pande & Ramos. Current Medicinal Chemistry 10 (2003) 1603-1615.
3. Paoletti et al. Neuroscience 158 (2009) 126-136.
4. Braga et al. Zebrafish 10 (2013) 376-388.
5. Uddin et al. Chemosphere 90 (2013) 366-373.
6. Malavolta et al. Cytometry Part A 69A (2006) 1043-1053.
7. Giorda et al. Chemosphere 69 (2007) 170-175.