

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/02/2017.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO GESTACIONAL A CÁDMIO
E DIMETOATO SOBRE O COMPORTAMENTO DE
ANSIEDADE NA PROLE DE RATOS**

FÁBIO ANSELMO

Botucatu - SP

2016



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO GESTACIONAL A CÁDMIO
E DIMETOATO SOBRE O COMPORTAMENTO DE
ANSIEDADE NA PROLE DE RATOS**

FÁBIO ANSELMO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu para a obtenção do título de mestre.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Francisco Godinho

Botucatu - SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Anselmo, Fábio.

Efeitos da exposição gestacional a cádmio e dimetoato sobre o comportamento de ansiedade na prole de ratos / Fábio Anselmo. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Antonio Francisco Godinho

Capes: 21000000

1. Cádmio. 2. Dimetoato. 3. Ansiedade. 4. Neurotoxicologia. 5. Poluição. 6. Compostos Químicos.

Palavras-chave: ansiedade; cádmio; co-exposição a agentes ambientais; dimetoato; neurotoxicidade.

ATA DE DEFESA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado de FÁBIO ANSELMO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (FARMACOLOGIA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS.

Aos 29 dias do mês de fevereiro do ano de 2016, às 14:00 horas, no(a) Anfiteatro , reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. ANTONIO FRANCISCO GODINHO do(a) Ceatox / Instituto de Biociências de Botucatu, Prof. Dr. CELSO ACÁCIO RODRIGUES DE ALMEIDA COSTA do(a) Departamento de Farmacologia / Instituto de Biociências de Botucatu, Profa. Dra. CARLA ADRIENE DA SILVA FRANCHI do(a) Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina de Botucatu, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE Mestrado de FÁBIO ANSELMO, intitulada **EFEITOS DA EXPOSIÇÃO GESTACIONAL A CÁDMIO E DIMETOATO SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE NA PROLE DE RATOS**. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADO . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. ANTONIO FRANCISCO GODINHO

Prof. Dr. CELSO ACÁCIO RODRIGUES DE ALMEIDA COSTA

Profa. Dra. CARLA ADRIENE DA SILVA FRANCHI

Dedico este trabalho aos meus queridos pais. O amor de uma mãe e de um pai é o combustível que capacita um ser humano comum a fazer o impossível.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. Antonio Francisco Godinho pelos ensinamentos, pela disposição em sempre ajudar, pela compreensão e paciência, pelo apoio em todos os momentos e principalmente pelos conselhos e amizade.

A todos os funcionários do CEATOX, Dr. Alaor Aparecido Almeida, Fábio Iachel da Silva, João Leandro Chaguri, Sarah Setznagl, Juliano da Silva Otoni, Josie Michelle Juvencio, Rita de Cássia Ferrari pela disposição em ajudar e pela colaboração na execução deste projeto.

A atual supervisora do CEATOX, Dr^a. Valéria Cristina Sandrim, ao antigo supervisor do CEATOX, Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior e ao coordenador do programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia Dr. Luiz Claudio Di Stasi pelos conselhos e disposição em ajudar.

Aos meus queridos colegas de laboratório, Caique Aparecido Faria, Daniel França Horta, Meyre Mieko Yassuda, Daniela Alessandra Fossato da Silva, Jessica Dorador Kawashima, Daniel de Fraia pela ajuda, disposição e principalmente pela amizade.

A Prof^a. Dr^a. Ana Angélica Henrique Fernandes e seu aluno Anderson Kiyoshi Kaga pela fundamental colaboração com este projeto.

A CAPES pelo auxílio financeiro.

A minha irmã Luciana Anselmo e aos meus queridos sobrinhos Laura Bertin e Luiz Fernando Bertin pelo apoio e carinho.

Aos meus pais José Anselmo e Áurea Roso Anselmo pelo incentivo, compreensão, conselhos, paciência em todos os momentos da minha vida. Sem eles, nada seria possível.

E especialmente a minha namorada Lenita Leme Corrêa que esteve sempre ao meu lado, me apoiando e me dando força nos momentos mais difíceis, sempre com muito carinho e amor.

Muito obrigado nunca será suficiente para demonstrar a grandeza do carinho e dedicação que recebi de todos vocês.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Avaliação do desenvolvimento físico através do ganho de peso corporal (A), descolamento das orelhas (B), abertura dos olhos (C), erupção dos incisivos (D) e aparecimento de pelos (E).....	11
FIGURA 2 - Avaliação do desenvolvimento sensório-motor através dos reflexos de endireitamento (A), geotaxia negativa (B) e preensão palmar (C).....	11
FIGURA 3 - Arena de Campo Aberto.....	12
FIGURA 4 - Labirinto em Cruz Elevado.....	13
FIGURA 5 - Caixa claro/escuro.....	14
FIGURA 6 - Ganho de peso corpóreo das mães durante o período de gestação.....	15
FIGURA 7 - Concentração de cádmio no sangue das mães no 20º dia de gestação.....	16
FIGURA 8 - Concentração de dimetoato no sangue das mães no 20º dia de gestação.....	16
FIGURA 9 - Peso médio dos filhotes no DPN0, DPN7, DPN14 e DPN21.....	17
FIGURA 10 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, na ACA.....	19
FIGURA 11 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, na ACA.....	20
FIGURA 12 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, no LCE.....	20
FIGURA 13 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, no LCE.....	21
FIGURA 14 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, na CCE.....	21
FIGURA 15 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, na CCE.....	22
FIGURA 16 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, na CCE.....	22
FIGURA 17 - Efeito da exposição ao Cd e DM em ratas no período gestacional, sobre o comportamento de ansiedade na prole, na CCE.....	23
FIGURA 18 - Atividade da colinesterase sanguínea na prole com 30 e 80 dias de idade.....	25
FIGURA 19 - Atividade da colinesterase cerebral na prole com 30 e 80 dias de idade.....	25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - N° de filhotes/sexo/mãe e N° de filhotes vivos/mortos nos diferentes grupos de exposição.....18

TABELA 2 - Avaliação de parâmetros iniciais físicos e sensório-motores de filhotes de mães do grupo controle e expostas aos diversos tratamentos durante a gestação.....18

TABELA 3 - Concentração de cádmio no sangue, cérebro e fígado da prole com 30 e 80 dias de idade.....24

TABELA 4 - Peso relativo (mg) do cérebro, fígado, baço, rins, testículos e coração da prole com 80 dias de idade, provinda de mães do grupo controle e expostas ao cádmio (Cd), dimetoato (DM) e cádmio+dimetoato (Cd+DM) durante a gestação.....26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% - Porcentagem

µg/L - microgramas por litro

µg/ml - microgramas por mililitro

ACA - Arena de campo aberto

ACh - Acetilcolina

AChE - Acetilcolinesterase

CCE - Caixa claro-escura

Cd - Cádmiio

Cd+DM - Cádmiio+Dimetoato

cm - Centímetros

Ct - Controle

DM - Dimetoato

DOHaD - Origens do desenvolvimento da saúde e da doença

DPN - Dia pós-natal

g - gramas

l - litros

LCE - Labirinto em cruz elevado

mg - miligramas

mg/kg - miligramas por quilograma

mg/l - miligramas por litro

min - Minutos

NIH - National Institutes of Health

Nº - Número

OF - Organofosforados

OMS - Organização Mundial da Saúde

PPB - Parte por bilhão

seg - segundos

SINPAF - Sindicato Nacional dos trabalhadores de Pesquisa e Desenvolvimento Agropecuário

SNC - Sistema nervoso central

U/L - unidades por litro

UI - Uma unidade internacional (UI) é a quantidade de enzima que converte 1µmol de substrato por minuto, em condições padrão.

v - volume

W - Watt

HPA - Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

RESUMO

Nas últimas décadas os níveis de contaminação ambiental por metais pesados e inseticidas vêm aumentando significativamente, acompanhando exponencialmente o rápido e crescente desenvolvimento industrial levando à exposição simultânea a vários agentes químicos com ação sobre o sistema nervoso central (SNC). Sob o ponto de vista toxicológico, co-exposição a substâncias químicas tende a piorar de forma qualitativa e quantitativa os danos produzidos e a irreversibilidade dos processos de neurotoxicidade. Um dos mais prevalentes tipos de desordens sobre o SNC é o da ansiedade. O objetivo deste trabalho foi estudar a co-exposição gestacional ao metal pesado cádmio (Cd) e ao inseticida organofosforado dimetoato (DM) e sua influência sobre o comportamento de ansiedade na prole de ratos em desenvolvimento. Fêmeas prenhes foram expostas durante toda a gestação, por via oral, a solução de Cd (10mg/l), DM (4mg/kg, gavage) e Cd+DM. Após o nascimento dos filhotes foram avaliados: desenvolvimento físico e sensorio-motor dos filhotes durante os primeiros dias de idade e o comportamento de ansiedade nas idades de 30 e 80 dias, utilizando arena de campo aberto (ACA), labirinto em cruz elevado (LCE) e caixa claro-escuro (CCE). Também foram quantificados o Cd e o DM tecidual e a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) sanguínea e cerebral. Os resultados obtidos mostram que: a co-exposição aos agentes alterou o desenvolvimento físico dos filhotes; Cd, DM e Cd+DM aumentaram a ansiedade da prole, tanto na idade jovem quanto na idade adulta, porém, o aumento da ansiedade provocado pela co-exposição não foi totalmente diferente daquele das substâncias individualmente. A atividade da AChE não foi modificada significativamente, indicando que a enzima parece não estar envolvida nesse aumento da ansiedade. Concluiu-se que apesar da exposição gestacional ao Cd, DM e ao Cd+DM provocar aumento no comportamento de ansiedade na prole, não ficou claro se houve um efeito potencializado sobre a ansiedade, quando da exposição à mistura de Cd+DM. Ainda, que pode ter havido reprogramação fetal para ansiedade já que o efeito neurocomportamental observado permaneceu até a idade adulta da prole, independentemente da presença do agente provocador, principalmente no grupo exposto ao DM.

Palavras-chave: cádmio, dimetoato, co-exposição a agentes ambientais, ansiedade, neurotoxicidade.

ABSTRACT

In the last decades the levels of environmental contamination by heavy metals and insecticides increased significantly, following exponentially the fast and crescent industrial development leading to the simultaneous exposition to some chemical agents with action on the central nervous system (SNC). Under the toxicological point of view, co-exposure enhances qualitatively and quantitatively the damages produced and the irreversibility of the neurotoxicity processes. One of the most prevalent types of disorders on the SNC is the anxiety. The objective of this work was to study the gestational co-exposure to heavy metal cadmium (Cd) and organophosphate insecticide dimethoate (DM), and its influences on anxiety behavior of rats offspring during its development. Pregnant females were exposed during gestational period, by oral view, to the Cd solution (10 mg/l), DM (4 mg/kg, gavage), or Cd+DM. After birth were evaluated: offspring's physical and sensory-motor development in the first days of age, and anxiety behavior in the ages of 30 and 80 days, using open field arena (OF), elevated plus maze (EPM) and light-dark box (LDB) apparatus. Also were quantified Cd and DM in tissues and activity of the acetylcholinesterase enzyme (AChE) in blood and brain. The obtained results show that: co-exposition to chemical agents modified the physical development of the young rats; Cd, DM and Cd+DM increased the anxiety of the offspring in the young and adult age however, the increase of anxiety provoked for the co-exposure was not totally different of that observed with the substances individually. The activity of the AChE was not modified significantly, indicating that the enzyme seems not to be involved in this increase of the anxiety. It was concluded that although the gestational exposure to Cd, DM and to the Cd+DM to provoke increase in the behavior of anxiety in the offspring, were not clearly if had a potentialized effect on anxiety, due to Cd+DM exposure. Still, that it can have occurred fetal reprogramming for anxiety since the observed neurobehavioral effect remained until the adult age of the offspring, independently of the presence of provoking agent, mainly in the group exposed to DM.

Key Words: cadmium, dimethoate, co-exposure to environmental agents, anxiety, neurotoxicity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Exposição ao metal cádmio.....	03
1.2. Exposição ao inseticida dimetoato.....	05
2. HIPÓTESES DE TRABALHO	08
3. OBJETIVOS	08
4. MATERIAL E MÉTODOS	09
4.1. Animais.....	09
4.2. Procedimento Experimental.....	09
4.3. Grupos de tratamento para exposição “ <i>in útero</i> ”.....	09
4.4. Justificativa da escolha das doses utilizadas.....	09
4.5. Avaliações realizadas.....	10
4.5.1. Nas mães.....	10
4.5.2. Nos filhotes.....	10
4.5.2.1. Ao nascimento (dia pós-natal zero - DPN0).....	10
4.5.2.2. Durante os primeiros dias do desenvolvimento pós-natal (DPN1-DPN15).....	11
4.5.2.3. Durante as fases jovem (DPN30) e adulta (DPN80) de desenvolvimento pós-natal.....	11
4.5.2.3.1. Avaliação do comportamento de ansiedade.....	11
4.5.2.4. Durante a fase adulta (DPN80) de desenvolvimento pós-natal.....	14
4.5.2.4.1. Peso relativo do cérebro, fígado, baço, rins, testículos e coração.....	14
4.6. Análise Estatística.....	14
5. RESULTADOS	15
5.1. Nas mães.....	15
5.1.1. Ganho de Peso das gestantes.....	15
5.1.2. Determinação de cádmio no sangue no 20º dia de gestação.....	15
5.1.3. Determinação de dimetoato no sangue no 20º dia de gestação.....	16
5.2. Nos filhotes.....	16
5.2.1. Evolução do peso corpóreo após o nascimento (DPN0, DPN7, DPN14 e DPN21).....	16
5.2.2. Ao nascimento (dia pós-natal zero - DPN0).....	17
5.2.2.1. Número de filhotes/sexo/mãe e número de filhotes vivos/mortos.....	17
5.2.3. Durante os primeiros dias do desenvolvimento pós-natal (DPN1-15).....	18
5.2.3.1. Avaliação dos parâmetros iniciais físicos e sensorio-motores (DPN1-15).....	18
5.2.4. Durante as fases jovem (DPN30) e adulta (DPN80) de desenvolvimento pós-natal.....	19
5.2.4.1. Avaliação do comportamento de ansiedade.....	19
5.2.4.2. Dosagem de Cd no sangue, cérebro e fígado dos animais.....	23
5.2.4.3. Dosagem de DM no sangue, cérebro e fígado dos animais.....	24
5.2.4.4. Dosagem da atividade da colinesterase sanguínea e cerebral.....	25
5.2.5. Durante a fase adulta (DPN80) de desenvolvimento pós-natal.....	26
5.2.5.1. Peso relativo do cérebro, fígado, baço, rins, testículos e coração.....	26
6. DISCUSSÃO	26
7. CONCLUSÕES	30
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas os níveis de contaminação ambiental por metais pesados e inseticidas vêm aumentando significativamente, acompanhando o crescente desenvolvimento industrial. Estudos recentes têm demonstrado que, a co-exposição a substâncias químicas podem provocar danos sistêmicos nos organismos vivos, incluindo seres humanos, produzindo desde os efeitos mais simples normalmente observados, como quadros gastrintestinais, inflamação, cefaleia, até efeitos mais complexos como neurotoxicidade, desregulação endócrina e câncer. Sob o ponto de vista toxicológico, a co-exposição a substâncias químicas tende a piorar de forma qualitativa e quantitativa os danos produzidos e a irreversibilidade destes processos (Leret et al., 2003; Moser et al., 2005).

Pelo fato de inseticidas e metais pesados terem, em muitos casos, efeito cumulativo no organismo humano e animal quando existe a exposição contínua, mesmo a baixas doses, ocorrem efeitos graduais que alteram a homeostasia dos organismos podendo culminar com sequelas permanentes e uma incidência diversa e mais alta de doenças. Somando-se à atividade industrial, a utilização cada vez maior de fertilizantes fosfatados em solo agrícola trás como consequência alto índice de contaminação das águas (a céu aberto e subterrânea) e do próprio solo, por metais como o cádmio, devido à contaminação destes fertilizantes pelo metal (Laudanski et al., 1991; Satarug et al., 2003).

Ao mesmo tempo, as capacidades atuais, principalmente dos países em desenvolvimento, de produzir e colher grandes quantidades de alimentos e com participação reduzida do trabalho humano, têm sido possíveis especialmente com o uso de praguicidas. Assim como em todo o mundo, as classes mais utilizadas de praguicidas no Brasil são as dos inseticidas, herbicidas e fungicidas. Em conjunto, estas três categorias representam bilhões de quilogramas de praguicidas usados anualmente, principalmente na agricultura (Jardim e Andrade, 2009). Segundo o Sindicato Nacional dos Trabalhadores de Pesquisa e Desenvolvimento Agropecuário (SINPAF, 2011) em 2008, o Brasil assumiu a liderança mundial no consumo de agroquímicos, posição antes ocupada pelos Estados Unidos.

Diante deste quadro e somando-se o fato de que o ser humano nunca se expõe a uma única substância e sim a uma variedade delas, a avaliação do risco de toxicidade por misturas de metais pesados e praguicidas agrícolas tem papel fundamental para o entendimento das situações de intoxicação bem como para a prevenção das mesmas.

A via de exposição materna é comumente observada em nosso meio e gera situações diversas e ainda não bem compreendidas de doenças que se desenvolvem de forma sutil e trazem agravos à saúde das populações expostas. Evidências obtidas através de estudos em humanos e animais sugerem que muitas doenças que se manifestam na idade adulta do indivíduo estão associadas a fatores ambientais durante a vida fetal, como consequência da plasticidade metabólica dos organismos e das reprogramações fetais que podem ocorrer, situação também denominada de toxicologia do desenvolvimento (Barker et al., 2002).

A toxicologia do desenvolvimento é um termo relativamente recente encontrado dentro da toxicologia reprodutiva (Udo, 2012). No entanto, ela tem suas raízes relacionadas à teratologia, termo utilizado antigamente para denominar alterações de ordem estrutural no conceito (Górniak et al., 2008), ligadas a perturbações do desenvolvimento embrionário ou fetal, estudando suas anomalias e malformações (Udo, 2012). De modo geral, a toxicologia reprodutiva dedica-se ao estudo de fatores que possam alterar o sistema reprodutor, o desenvolvimento do embrião e feto e o desenvolvimento pós-natal da prole (Santos, 2011).

Um dos efeitos prevalentes dos agentes químicos do tipo metais pesados e inseticidas organofosforados é o de provocar manifestações tóxicas sobre o sistema nervoso, denominado geralmente de efeito de neurotoxicidade. (Leret, 2003). Dentre os diversos efeitos neurotóxicos, a ansiedade é uma das desordens prevalentes e que preocupa bastante pelo fato de influenciar negativamente a saúde pública. De forma geral pode-se definir ansiedade como um estado psíquico de apreensão ou medo devido à antecipação de uma situação desagradável ou mesmo perigosa, acompanhado de sintomas somáticos de tensão (Angélico, 2009).

A ansiedade dentro de certos limites é natural e útil, uma vez que constitui um valioso recurso adaptativo e incita as pessoas a procurar e encontrar soluções positivas. Neste sentido é uma poderosa fonte de ação e evolução do próprio indivíduo. Quando a ansiedade atinge um valor extremo e caráter sistemático torna-se patológica. Neste caso, começa a haver alterações no funcionamento saudável da pessoa nas várias vertentes da vida (Hook, 2002).

Existem vários tipos de perturbação de ansiedade, como por exemplo, a ansiedade generalizada, as fobias, a perturbação de pânico, a perturbação obsessivo-compulsiva e a síndrome de estresse pós-traumático. Sabe-se que não existe um fator único que explique o aparecimento de determinada perturbação de ansiedade. De um modo geral, existem

fatores de natureza biológica e psicológica (acontecimento externos e conflitos internos) envolvidos no desenvolvimento desse transtorno (Angélico, 2009).

1.1. Exposição ao metal cádmio

Muitos íons metálicos, incluindo o cádmio, exercem uma grande variedade de efeitos adversos sobre reprodução (sub-fertilidade em ambos os sexos, abortos, retardo do crescimento intra-uterino, malformações e defeitos congênitos), dificuldade no aprendizado, alterações comportamentais, envelhecimento prematuro, além de efeitos sobre o sistema nervoso central e glândula pituitária (Apostoli e Catalani, 2011).

O cádmio em especial, fica no mesmo patamar do chumbo e do mercúrio como metais importantes no ponto de vista toxicológico. O cádmio ocorre na natureza em combinação com o zinco e chumbo, causando contaminação ambiental. Como menos de 5% desses metais são reciclados, a poluição ambiental é uma preocupação importante.

A meia-vida do cádmio no organismo é de 10-30 anos principalmente por causa da sua baixa excreção do corpo e, se a exposição ambiental for contínua, as concentrações desse metal nos tecidos aumentam durante toda vida de forma cumulativa (Klaassen, 2001). Assim, exposição prolongada a ele tem sido ligada a diversos efeitos tóxicos visto que ele se acumula ao longo do tempo, em uma variedade de estruturas incluindo rins, fígado e SNC (Zadorozhnaja et al., 2000). Devido a sua alta liberação no ambiente, é provável que o cádmio no corpo humano aumente progressivamente no futuro. Em consequência, poderia provocar uma incidência mais alta de doenças.

Por ser absorvido através do contato com o solo, o cádmio aparece nas folhas da planta de tabaco (Yue, 1992; Bachelet et al., 2002) e está presente na fumaça do cigarro. Tem sido observado que, fumantes possuem elevada carga de cádmio no corpo (Wu et al., 1995; Jarup et al., 1998; Satarug e Moore, 2004).

Por outro lado, considerando os efeitos neurocomportamentais em longo prazo, da exposição ao cádmio *in utero* (Ali et al., 1986), o hábito de fumar em mulheres grávidas, o qual foi relatado ser maior que 20% na América do norte (NIH, 1996), contribui para o aparecimento de sérios problemas em saúde pública, relacionados ao desenvolvimento dos filhos de mães tabagistas. Baixo nível de exposição ao cádmio em mães no período da lactação levou a alterações dos níveis de serotonina no cérebro dos seus descendentes (Andersson et al., 1997).

Porém, estudos recentes indicam que exposições crônicas a baixas doses de cádmio podem causar problemas neurocomportamentais em humanos e animais, até mesmo

quando nenhum dano renal for descoberto (Viaene et al., 2000; Leret et al., 2003). Em trabalhadores expostos ocupacionalmente dificulta a funcionalidade visual motora, promove alterações de equilíbrio emocional e prejudica a concentração (Viaene et al., 2000).

O cádmio é mais tóxico para ratos recém-nascidos e jovens provavelmente devido às diferenças na integridade da barreira hemato-encefálica (Yargıçoğlu et al., 1997; Antonio et al., 2010). Contudo, este metal pode aumentar a permeabilidade desta barreira, penetrando e acumulando no cérebro de ratos em desenvolvimento e adultos (Méndez-Armenta e Ríos, 2007; Pari e Murugave 2007; Gonçalves et al., 2010), levando a acumulação intracelular cerebral, disfunções celulares e edema cerebral.

Experimentalmente, exposição pré e neonatal resultou em hiperatividade (Ali, et al., 1990) enquanto que em ratos adultos demonstrou uma diminuição da atividade locomotora espontânea (Ali et al., 1990; Lukawski et al., 2005). Arito et al. (1981) observaram aumento do comportamento agressivo de ratos, induzido por administração repetida de cádmio. Pesquisas de Leret et al. (2003) comprovaram a ação do cádmio no SNC, pois em estudos feitos com animais foram constatados hiperatividade motora, aumento do comportamento agressivo e prejuízos dos mecanismos de memória social.

Experimentos conduzidos por Ronco et al. (2011) fornecem, pela primeira vez, evidências experimentais demonstrando que a exposição ao cádmio durante o período da gravidez pode reprogramar o desenvolvimento cardiovascular da descendência que por sua vez pode conduzir a um risco aumentado de doenças cardiovasculares, a longo prazo.

Pesquisas desenvolvidas recentemente sobre o cádmio, em nossos laboratórios, têm colaborado para evidenciar alguns dos potenciais efeitos tóxicos deste metal pesado: ratos jovens os quais foram expostos durante quatro semanas ao cádmio tiveram aumento no comportamento de agressividade (Castilho et al., 2007); exposição perinatal a baixo nível de cádmio potencializou a neurotoxicidade subaguda pelo clorpirifós em ratos jovens (Azevedo et al., 2010); ratos expostos concomitantemente ao cádmio e ao estresse, tiveram aumento do comportamento de agressividade (Terçariol et al., 2011); exposição de ratos a baixas doses de cádmio durante a puberdade, mesmo por um curto período de tempo, interferiram na homeostase de epitélio-estroma da próstata, e esta perturbação foi um fator importante no aparecimento de lesões da próstata no final da vida (Lacorte et al., 2011); exposição ao Cd *in útero* e através da lactação afetou negativamente a qualidade do esperma de ratos adultos, evidenciado pelo comprometimento da morfologia e da motilidade do esperma, além do aumento da taxa de morte celular no testículo (Banzato et

al., 2012); ingestão de cafeína reduziu o acúmulo de cádmio total no organismo e aumentou os níveis de expressão de proteínas antioxidantes no epidídimo, sugerindo assim um efeito protetor contra este metal (Lacorte et al., 2013).

Experimentos de Leret et al. (2003) mostraram que filhotes adultos de fêmeas co-expostas ao chumbo e cádmio nos períodos da gestação e lactação, apresentaram aumento do comportamento de ansiedade. Os autores atribuíram este efeito às alterações nos níveis de dopamina e serotonina no hipocampo dos animais.

Gonçalves et al. (2012) estudando ratos recebendo cronicamente Cd por via oral observaram nos animais aumento do comportamento de ansiedade, aumento do Cd no cérebro, aumento da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) e diminuição da atividade da enzima Na, K-ATPase, no cérebro.

Também, o Cd pode afetar o grau e balanço da excitação-inibição da neurotransmissão sináptica bem como os níveis de antioxidantes no cérebro animal (Provias et al., 1994; Minami et al., 2001; Méndez-Armenta e Ríos, 2007). Entretanto, estudos em ratos mostraram um aumento do comportamento agressivo e de ansiedade, impedimento dos processos de aprendizado e memória e mudanças no desenvolvimento do sistema visual (Holloway e Thor, 1988; Yargıçoglu et al., 1997; Desi et al., 1998; Gonçalves et al., 2010; Terçariol et al., 2011). Alguns estudos sobre toxicidade do Cd têm encontrado uma associação entre distúrbios comportamentais e transmissão colinérgica visto que um aumento ou uma diminuição na atividade da AChE foi verificada em ambos, modelos animais e humanos que mostraram impedimentos comportamentais após exposição ao Cd (Pari e Murugavel, 2007; Gonçalves et al., 2010). Esta enzima hidrolisa o neurotransmissor acetilcolina (ACh) na fenda sináptica das sinapses colinérgicas e junções neuromusculares (Soreq e Seidman, 2001).

Alterações na atividade da AChE tem sido observada em várias doenças e envenenamentos, incluindo efeitos neurocomportamentais, sugerindo que esta enzima poderia ser um importante parâmetro fisiológico e patofisiológico (Kaizer et al., 2005; Schmatz et al., 2009; Gonçalves et al., 2010).

1.2. Exposição ao inseticida dimetoato

Praguicidas compreendem um grupo grande de agentes químicos com múltiplas finalidades. Um destes grupos é o dos inseticidas, substâncias utilizadas para controlar insetos (Larini, 1999). Juntamente com a ampla utilização de praguicidas no mundo, as preocupações sobre seus impactos na saúde estão crescendo rapidamente. Há um enorme

conjunto de evidências sobre a relação entre a exposição a eles e frequência elevada de doenças crônicas, tais como diferentes tipos de cânceres, diabetes, doenças neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer e Esclerose Lateral Amiotrófica), defeitos congênitos, distúrbios reprodutivos e distúrbios comportamentais (Mostafalou e Abdollahi, 2013).

Geralmente, a exposição humana a inseticidas pode resultar da exposição ambiental, ocupacional, acidental e/ou intencional. Dentre os inseticidas, a classe dos organofosforados (OF) é permitida para uso e estes compostos acabam sendo intencionalmente liberados no ambiente, levando a potenciais perigos para a saúde humana e animal. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 1 milhão de envenenamentos acidentais e de 2 milhões de suicídios com OF são relatados por ano, com mais de 300.000 mortes (Jeyaratnam, 1990).

Inseticidas organofosforados são substâncias capazes de provocar neurotoxicidade ao organismo de mamíferos devido ao seu conhecido efeito inibidor sobre a enzima AChE (Jamal et al., 2002). Exposição aguda a inibidores da colinesterase produz espectro bem definido de efeitos comportamentais em mamíferos que são geralmente bem explicados pela estimulação excessiva dos receptores colinérgicos nos sistemas nervosos, central e periférico (Ecobichon, 1996). Envenenamento agudo pode levar a desordens persistentes do sistema cognitivo, motor, sensorial e do domínio afetivo, sendo o comportamento de ansiedade um dos alterados pela exposição. Compensações para os efeitos neuroquímicos observados complicam a situação quando a exposição é prolongada, repetida ou quando ocorre exposição a múltiplos químicos (Moser et al., 2005). Porém, a questão do potencial de toxicidade com consequências a médio e longo prazo, permanece ainda, obscura.

Muitos modelos animais têm sido desenvolvidos para refletir muitos dos sinais e sintomas da exposição dos humanos, para ambas as exposições (agudas e crônicas), e assim gerar dados críticos para a caracterização e estudo destes efeitos. Neste sentido, exposição de animais experimentais a inseticidas organofosforados e agentes gasosos irritantes nervosos resultaram em alterações da atividade da colinesterase e receptores muscarínicos da acetilcolina em regiões cerebrais (Kobayashi et al., 2007) e, a longo prazo, aumento dos comportamentos de ansiedade e medo (Mamczarz et al., 2010; Moffett et al., 2011).

Recentemente, Braquenier et al. (2010) estudando a ansiedade de filhotes de ratos de fêmeas que receberam o inseticida organofosforado clorpirifós durante os períodos da gestação e lactação, utilizando o labirinto em cruz elevado e o teste da caixa claro-escuro,

observaram aumento de ansiedade na prole adulta (filhotes fêmeas). Os autores relatam que o efeito foi dependente da dose de exposição e o resultado pode estar relacionado com a diminuição da atividade da colinesterase cerebral.

Por causa da importância da ACh como um neurotransmissor no sistema nervoso de mamíferos, os agentes químicos que inibem a AChE podem exercer efeitos profundos nos comportamentos mediados pelo sistema colinérgico. Estes efeitos podem ser benéficos ou prejudiciais, dependendo da dose e do grau de inibição da enzima e das condições fisiológicas do indivíduo exposto.

Dimetoato (O,O-Dimethyl-S-2-(methylamino)2-oxoethyl phosphoro-dithioate), o inseticida organofosforado escolhido para nosso estudo, tem moderada toxicidade humana (Who, 1989). Seu uso como inseticida e acaricida é difundido no Brasil e em vários países para o controle de grande variedade de insetos da lavoura e para controle de moscas no ambiente externo e no doméstico (Sayim, 2007). Para os seres humanos, o principal grupo de risco com altas taxas de exposição ao dimetoato são aqueles expostos ocupacionalmente (Sharma et al., 2005). A população de modo geral é exposta a menores níveis, possivelmente através dos alimentos, água e ar contaminados.

Alterações neurocomportamentais podem indicar perturbações no funcionamento do sistema nervoso e podem resultar da exposição a agentes químicos ambientais, tais como metais pesados e inseticidas. Testes neurocomportamentais são métodos quantitativos, não invasivos que podem medir uma ampla variedade de funções sensoriais, motoras e cognitivas, servindo assim como biomarcadores de efeito para agentes químicos ambientais que são capazes de provocar efeitos neurotóxicos. Neurotoxicidade durante o desenvolvimento constitui efeitos que ocorrem na prole principalmente como resultado da exposição da mãe durante a gravidez e/ou lactação (Andersen et al., 2000).

Acredita-se que as alterações metabólicas *in utero* podem estabelecer em longo prazo padrões fisiológicos e estruturais que o "programam" para a saúde ou doença, durante a vida adulta. Esta hipótese é atualmente conhecida como a hipótese de "origens do desenvolvimento da saúde e da doença" - DOHaD (Baker et al., 2007).

Nas últimas décadas, tem sido sugerido em várias áreas de pesquisa que eventos adversos ocorridos durante a vida intra-uterina têm efeito em longo prazo e podem reprogramar o desenvolvimento de órgãos e favorecer o aparecimento de doenças mais tarde na vida, quando há um impacto adicional do estilo de vida e outros fatores convencionais adquiridos, incluindo fatores de risco ambientais, que interagem com fatores genéticos (Ramírez-Vélez, 2012).

Oberlander (2012) relacionou uma série de evidências mostrando que a programação para a sinalização de serotonina fetal pode definir os caminhos para o comportamento e o desenvolvimento infantil e auxiliar na explicação das diferenças individuais observadas durante o desenvolvimento e na vida adulta.

Através de efeitos *in utero*, agentes químicos ambientais tais como metais pesados e praguicidas poderiam ser responsáveis por várias doenças, incluindo alterações comportamentais observadas durante o desenvolvimento que, por deixar uma marca, podem permanecer até a vida adulta do indivíduo.

7. CONCLUSÕES

O conjunto dos resultados obtidos no presente trabalho permite concluir principalmente que:

- Apesar da exposição gestacional ao Cd, DM e ao Cd+DM provocar aumento no comportamento de ansiedade na prole, não foram obtidas evidências claras de um efeito potencializado sobre a ansiedade, quando da exposição à mistura de Cd+DM;
- Pode ter havido reprogramação fetal para ansiedade já que o efeito neurocomportamental estudado permaneceu até a idade adulta da prole, independentemente da presença do agente xenobiótico, principalmente para o grupo de exposição ao DM;
- A enzima acetilcolinesterase não parece estar implicada nos efeitos observados sobre o comportamento de ansiedade;
- Alterações na maturação de órgãos podem também estar implicadas nos efeitos de neurotoxicidade aqui observados já que a co-exposição modificou parâmetros do desenvolvimento físico dos filhotes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alder, S.; Zbinden, G. Methods for the evaluation of physical, neuromuscular and behavior development of rats in early postnatal period. In: Neubert D, Merker HJ, Kwasigroch TE, editors. **Methods in prenatal toxicology**. Stuttgart: Georg Thieme Publishers, 175-185, 1977.
- Ali, M.M.; Murthy, R.C.; Chandra, S.V. Developmental and long-term neurobehavioral toxicity of low level in utero cadmium exposure in rats. **Neurobehav. Toxicol. Teratol.**, 8, 463-468, 1986.
- Ali, M.M.; Mathury, N.; Chandra, S.V. Effect of chronic cadmium exposure on locomotor behaviour of rats. **Ind. J. Expl. Biol.**, 28, 653-658, 1990.
- Alissa, E. M.; Ferns, G. A. Heavy Metal Poisoning and Cardiovascular Disease. **J. Toxicol.**, 87-125, 2011.
- Andersen, H.R.; Nielsen, J.B.; Grandjean, P. Toxicologic evidence of developmental neurotoxicity of environmental chemicals. **Toxicology**, 144, 121-127, 2000.
- Andersson, H.; Petersson-grawe, K.; Londqvist, E.; Luthman, J.; Oskarsson, A.; Olson, L. Low-level cadmium exposure of lactating rats causes alterations in brain serotonin levels in the offspring. **Neurotoxicol. Teratol.**, 19(2), 105-115, 1997.
- Angélico, A.P. **Transtornos de ansiedade social e habilidades sociais: estudo psicométrico e empírico**. 2009. 215f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2009.
- Antonio, M.T.; Corredor, L.; Leret, M.L. Study of the activity of several enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. **Toxicol Lett.**, 143, 331-340, 2003
- Antonio, M.T.; Peinado, V.; González, J.C.; Leret, M.L. Effects of maternal cadmium administration on development of monoaminergic, GABAergic and glutamatergic systems. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 29, 87-90, 2010.
- Apostoli, P.; Catalani, S. Metal ions affecting reproduction and development. **Met Ions Life Sci.**, 8, 263-303, 2011.
- Arito, H.; Sudo, A.; Suzuki, Y. Aggressive behavior of the rat induced by repeated administration of cadmium. **Toxicol. Lett.**, 7, 457-461, 1981.
- Azevedo, M.A.A.; Figueiredo, C.G.; Godinho, A.F. Exposição perinatal a baixo nível de cádmio potencia a neurotoxicidade subaguda pelo clorpirifós em ratos jovens. **Rev. Bras. Toxicol.**, 23(3-4), 1-5, 2010.
- Bachelet, M. ; Pinot, F. ; Polla, R.I. ; Francois, D. ; Richard, M.J. ; Vaissier-Taussat, M. et al. Toxicity of cadmium in tobacco smoke: protection by antioxidants and chelating resins. **Free Radic. Res.**, 36, 99-106, 2002.

- Baker, J.L.; Olsen, L.W.; Sorensen, T.I.A. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. **N. Engl. J. Med.**, 357, 2329-2333, 2007.
- Banzato, T.P.; Godinho, A.F.; Zacarin, E.C.M.S.; Perobelli, J.E. Fernandez, C.D.B. Favareto, A.P.A.; Kempinas, W.G. Sperm quality in adult male rats exposed to cadmium in utero and lactation. **J. Toxicol. Environ. Health Part A**, 75, 1047-1058, 2012.
- Barker, D.J.; Eriksson, J.G.; Forsen, T.; Osmond, C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. **Int. J. Epidemiol.**, 31, 1235-1239, 2002.
- Bourin, M.; Hascoet, M. The mouse light/dark box test. **Eur. J. Pharmacol.**, 463, 55-65, 2002.
- Braquenier, J.B.; Quertemont, E.; Tirelli EPlumier, J.C. Anxiety in adult female mice following perinatal exposure to chlorpyrifos. **Neurotoxicol Teratol.**, 32(2), 234-239, 2010.
- Broadhurst, P.L. Experiments in psychogenetics. In: EYSENK, H.J. **Experiments in personality**. London: Rutledge and Keagan Paul, 31-61, 1960.
- Castilho, H.S.; Souza, R.P.; Lacorte, L.M.; Terçariol, S.G.; Almeida, A.A.; Godinho, A.F. Administração prolongada de cádmio aumenta a agressividade em ratos jovens. **Rev. Bras. Toxicol.**, 20(3), 116, 2007.
- Chen, L.; Qu, G.; Sun, X.; Zhang, S.; Wang, L.; Sang, N.; Du, Y.; Liu, J.; Liu, S. Characterization of the Interaction between Cadmium and Chlorpyrifos with Integrative Techniques in Incurring Synergistic Hepatotoxicity. **PLoS ONE**, 8(3): e59553. doi:10.1371/journal.pone.0059553, 2013.
- Costall, B.; Jones, B.J.; Kelly, M.E.; Naylor, R.J.; Tomkins, D.M. Exploration of mice in a black and white test box: Validation as a model of anxiety, **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 32, 777-785, 1989.
- Desi, I.; Nagyrnajtenyi, L.; Schulz, H. Behavioural and neurotoxicological changes caused by cadmium treatment of rats during development. **J. Appl. Toxicol.**, 18, 63-70, 1998.
- Ecobichon, D.J. Toxic effects of pesticides, in: C.D. Klaassen (Ed.), Casarett and Doull's Toxicology. **The Basic Sciences of Poisons**, fifth ed., McGraw-Hill, New York, p.643-689. 1996.
- Ellmam, G.L.; Coutney, K.D.; Andres, V.J.; Earherstone, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochem. Pharmacol.**, 7, 88-95, 1961.
- Finkelstein, Y.; Markowitz, M.E.; Rosen, J.F. Low-level lead-induced neurotoxicity in children, **Brain Res. Rev.**, 27, 168-176, 1998.

- Gonçalves, J.F.; Fiorenza, A.M.; Spanevello, R.M.; Mazzanti, C.M.; Bochi, G.V.; Antes, F.G.; Stefanello, N.; Rubin, M.A.; Dressler, V.L.; Morsch, V.M.; Schetinger, M.R.C. N-Acetylcysteine prevents memory deficits, the decrease in acetylcholinesterase activity and oxidative stress in rats exposed to cadmium. **Chem. Biol. Interact.**, 186, 53-60, 2010.
- Gonçalves, J.F.; Nicoloso, F.T.; Costa P.; Farias, J.G.; Carvalho, F.B.; Rosa, M.M.; Gutierrez, J.M.; Abdalla, F.H.; Pereira, J.S.F.; Dias, G.R.M.; Barbosa, N.B.V.; Dressler, V.L.; Rubin, M.A.; Morsch, V.M.; Schetinger, M.R.C. Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. **Food and Chemical Toxicology**, 50, 3709-3718, 2012.
- Górniak, S.L.; Spinosa, H.S.; Bernardi, M.M. Toxicologia do desenvolvimento. In: Spinosa, H.S.; Górniak, S.L.; Palermo-Neto, J. In: Toxicologia aplicada à medicina veterinária. São Paulo: Manole, 2008. Capítulo 25. 942p.
- Holloway, W.R.; Thor, D.H. Cadmium exposure in infancy: effects on activity in synaptic neurotransmission in the brain. **Brain Res.**, 894, 336-339, 1988.
- Hook, J.N.; Valentiner, D.P. Are Specific and Generalized Social Phobias Qualitatively Distinct? **Clinical Psychology: Science and Practice**, Malden, v.9, n.4, Winter 2002.
- Jamal, G.A.; Hansen, S.; Julu, P.O.O. Low level exposures to organophosphorus esters may cause neurotoxicity. **Toxicology**, 181-182, 23-33, 2002.
- Jardim, I.C.S.F.; Andrade, J.A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - um enfoque às massas. **Quím. Nova**, 32(4), 996-1012, 2009.
- Jarup, P.; Berglund, J.; Elinder, C.G.; Nordberg, G.; Vahter, M. Health effects of cadmium exposure - A review of the literature and a risk estimate. **Environ. Health**, 24, 1- 51, 1998.
- Jeyaratnam, J. Acute pesticide poisoning: a major global health problem. **World Health Stat. Q.**, 43, 139-144, 1990.
- Kaizer, R.R.; Corrêa, M.C.; Spanevello, R.M.; Morsch, V.M.; Mazzanti, C.M.; Gonçalves, J.F.; Schetinger, M.R.C. Acetylcholinesterase activation and enhanced lipid peroxidation after long-term exposure to low levels of aluminum on different mouse brain regions. **J. Inorg. Biochem.**, 99, 1865-1870, 2005.
- Klaassen, C.D. Metais pesados e antagonistas dos metais pesados. In: Goodman & Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Molinoff, P.B. and Ruddon, R.W. (Eds.) Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, cap. 67, 1389-1407, 2001.
- Kobayashi, H.; Suzuki, T.; Sakamoto, M.; Hashimoto, W.; Kashiwada, K.; Sato, I.; Akahori, F.; Satoh, T. Brain regional acetylcholinesterase activity and muscarinic acetylcholine receptors in rats after repeated administration of cholinesterase inhibitors and its withdrawal. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 219, 151-161, 2007.

- Lacorte, L.M.; Delella, F.K.; Amorim, E.M.P.; Justulin Jr., L.A.; Godinho, A.F.; Almeida, A.A.; Pinheiro, P.F.F.; Amorim, R.L.; Felisbino, S.L. Early changes induced by short-term low-dose cadmium exposure in rat ventral and dorsolateral prostates. **Microscopy Research and Technique**, 74(11), 988-997, 2011.
- Lacorte, L.M.; Seivac, F.R.F.; Rinaldia, J.C.; Delella, F.K.; Moroza, A.; Sarrobo, C.; Godinho, A.F.; Favaro, W.J.; Fernandes, A.A.H.; Felisbino, S.L. Caffeine reduces cadmium accumulation in the organism and enhances the levels of antioxidant protein expression in the epididymis. **Reprod. Toxicol.**, 35, 137-143, 2013.
- Larini, L. Toxicologia dos praguicidas. 1^a. Edição, Editora Manole, São Paulo, 1999.
- Laudanski, T.; Sipowicz, M.; Modzelewski, P. Influence of high lead and cadmium soil content on human reproductive outcome. **Internat. J. Gynecol. Obst.**, 36, 309-315, 1991.
- Leret, M.L.; Millán, J.A.S.; Antonio, M.T. Perinatal exposure to lead and cadmium affects anxiety-like behaviour. **Toxicology**, 186, 125-130, 2003.
- Lukawski, K.; Nieradko, B.; Sieklucka-Dziuba, M. Effects of cadmium on memory processes in mice exposed to transient cerebral oligemia. **Neurotoxicol. Teratol.**, 27, 575-584, 2005.
- Mamczarz, J.; Pereira, E.F.; Aracava, Y.; Adler, M.; Albuquerque, E.X. An acute exposure to a sub-lethal dose of soman triggers anxiety-related behavior in guinea pigs: interactions with acute restraint. **Neurotoxicology**, 31, 77-84, 2010.
- Méndez-Armenta, M.; Ríos, C. Cadmium neurotoxicity. **Environ. Toxicol. Appl. Met. Ions Life Sci.**, 8, 263-303, 2007.
- Merck Index 12^a Ed., 1996, p.1665 e p.3270. Merck & CO., INC, White house Station, N.J., U.S.A.
- Minami, A.; Takeda, A.; Nishibaba, D.; Takefuta, S.; Oku, N. Cadmium toxicity in synaptic neurotransmission in the brain. **Brain Res.**, 894(2), 336-339, 2001.
- Moffett, M.C.; Schultz, M.K.; Schwartz, J.E.; Stone, M.F.; Lumley, L.A. Impaired auditory and contextual fear conditioning in soman-exposed rats. **Pharmacol Biochem Behav.**, Mar; 98(1):120-9. doi: 10.1016/j.pbb.2010.11.022. Epub 2010 Dec 7, 2011.
- Moser, V.C.; Phillips, P.M.; McDaniel, K.L.; Marshall, R.S.; Hunter, D.L.; Padilla, S. Neurobehavioral effects of chronic dietary and repeated high-level exposure to chlorpyrifos in rats. **Toxicol. Sci.**, 86, 375-386, 2005.
- Mostafalou, S.; Abdollahi, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 268, 157-177, 2013.

- National Institutes of Health (NIH). **National pregnancy & health survey: drug use among women delivering live births**, 1992. Rockville, M.D.: Department of Health and Human Services, 1996.
- Oberlander, T.F. Fetal Serotonin Signaling: Setting Pathways for Early Childhood Development and Behavior. **J. Adolesc. Health**, 51, 9-16, 2012.
- Pari, L.; Murugavel, P. Diallyl tetrasulfide improves cadmium induced alterations of acetylcholinesterase, ATPases and oxidative stress in brain of rat. **Toxicology**, 234, 44-50, 2007.
- Pellow, S.; Chopin, M. The effect of putative anxiogenic compounds (FG 7142, CGS 8216 and Ro 15-1788) on the rat corticosterone response. **Physiol. Behav.**, 35, 587-590, 1985.
- Pellow, S.; File, S.E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 24, 525-529, 1986.
- Provias, J.P.; Ackerley, C.A.; Smith, C.; Becker, L.E. Cadmium encephalopathy: a report with elemental analysis and pathological findings. **Acta Neuropathol. Berl.**, 88, 583-586, 1994.
- Ramírez-Vélez, R. In utero fetal programming and its impact on health in adulthood. **Endocrinol Nutr.**, 59(6), 383-393, 2012.
- Roberts, C.A.; Clark, J.M. Improved determination of cadmium in blood and plasma by flameless atomic absorption spectroscopy. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 36, 496-499, 1986.
- Ronco, A.M.; Montenegro, M.; Castillo, P.; Urrutia, M.; Saez, D.; Hirsch, S.; Zepeda, R.; Llanos, M.N. Maternal exposure to cadmium during gestation perturbs the vascular system of the adult rat offspring. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 251, 137-145, 2011.
- Salvatori, F.; Talasi, C.B.; Salzgeber, S.A.; Spinosa, H.S.; Bernardi, M.M. Embryotoxic and Long-term Effects of Cadmium Exposure During Embryogenesis in Rats. **Neurotoxicology and Teratology**, 26, 673-680, 2004.
- Santos, T.R. Desenvolvimento neonatal de crias de ratas Wistar (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) tratadas com Flavanóide Ipriflavona durante a lactação plena. 2011. 52f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- Saratug, S.; Baker, J. R.; Urbenjapol, S.; Haswell-Elkins, M.; Reilly, P.; Williams, D. J.; Moore, M. R. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. **Toxicol. Lett.**, 137, 65-83, 2003.
- Satarug, S.; Moore, M.R. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. **Environ. Health Perspect.**, 112, 1099-1103, 2004.

- Sayim, F. Dimethoate-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats. **Exp. Toxicol. Pathol.**, 59, 237-243, 2007.
- Schmatz, R.; Mazzanti, C.M.; Spanevello, R.; Stefanello, N.; Gutierrez, J.; Corrêa, M.; Rosa, M.M.; Rubin, M.A.; Schetinger, M.R.C.; Morsch, V.M. Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. **Eur. J. Pharmacol.**, 610, 42-48, 2009.
- Seckl, J.R.; Holmes, M.C. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal programming of adult pathophysiology. **Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metabol.**, 3, 479-488, 2007.
- Sharma, Y.; Bashir, S.; Irshad, M.; Gupta, S.D.; Dogra, T.D. Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. **Toxicology**, 206, 49-57, 2005.
- Sindicato dos Trabalhadores de Pesquisa e Desenvolvimento Agropecuário (SINPAF). www.sinpaf.org.br/dodules/smartsection/item.php?itemid=644. [Acesso em 15 de agosto de 2015].
- Snedecor, G.W.; Cochran, W.G. **Statistical Methods**. 7^a ed. Iowa: Iowa State University Press, p. 593, 1980.
- Soreq, H.; Seidman, S. Acetylcholinesterase - new roles for an old actor. **Nat. Rev. Neurosci.**, 2, 294-302, 2001.
- Srivastava, M.K.; Raizada, R.B. Development of technical dimethoate in rats: maternal and fetal toxicity evaluation. **Indian J. Exp. Biol.**, 34(4), 329-333, 1996.
- Terçariol, S.G.; Almeida, A.A.; Godinho, A.F. Cadmium and exposure to stress increase aggressive behavior. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 32, 40-45, 2011.
- Trombini, T.V.; Pedroso, C.G.; Ponce, D.; Almeida, A.A.; Godinho, A.F. Developmental lead exposure in rats: is a behavioral sequel extended at F2 generation. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 67, 743-751, 2001.
- Udo, M.S.B. Avaliação dos efeitos tóxicos da exposição pré-natal ao fipronil na prole de ratas Wistar. 2012. 146f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Van der hoff, G.; Van Zoonen, P. Trace analysis of pesticides by gas chromatography. **J. Chromatogr. A.**, 843(1-2), 301-322, 1999.
- Viaene, M.K.; Masschelein, R.; Leenders, L.; De Groof, M.; Swerts, L.J.; Roels, H.A. Neurobehavioural effects of occupational exposure to cadmium: a cross sectional epidemiological study. **Occup. Environ. Med.**, 57, 19-27, 2000.
- Who, Dimethoate. **Environmental Health Criteria 90** Who, Geneva, 1989.

- Wu, D.; Landsberger, S.; Larson, S.M. Evaluation of elemental cadmium as a marker for environmental tobacco smoke. **Environ. Sci. Technol.**, 29, 2310-2316, 1995.
- Yargıçoglu, P.; Agar, A.; Oguz, Y.; Izgüt-Uysal, V.N.; Sentürk, Ü.K.; Öner, G. The effect of developmental exposure to cadmium (Cd) on visual evoked potentials (VEPs) and lipid peroxidation. **Neurotoxicol. Teratol.**, 19, 213-219, 1997.
- Yue, L. Cadmium in tobacco. **Biomed. Environ. Sci.**, 5, 53-56, 1992.
- Zadorozhnaja, T.D.; Little, R.E.; Miller, R.K.; Mendel, N.A.; Taylor, R.J.; Presley, B.J.; Gladen, B.C. Concentrations of arsenic, cadmium, copper, lead, mercury, and zinc in human placentas from two cities in Ukraine. **J Toxicol Environ Health A.**, 61(4), 255-263, 2000.