

## EFEITOS DA INSTILAÇÃO INTRANASAL DO MATERIAL PARTICULADO (MP2.5) NO COMPORTAMENTO DE FÊMEAS WISTAR ADULTAS

STEFANIE BENTO MENA<sup>1</sup>; ANA PAULA DA SILVA FERREIRA<sup>2</sup>; EDUARDO LINHARES DA SILVA<sup>3</sup>; CAROLINA ROSA GIODA<sup>4</sup>; GIOVANA DUZZO GAMARO<sup>5</sup>; IZABEL CRISTINA CUSTÓDIO DE SOUZA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - stefaniebentomena@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas - ana.silvaferreira7@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas - dud.linhares1@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Rio Grande - carolinagioda@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas - giovanagamaro@hotmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas - belcustodio20@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

O material particulado (MP) é constituído de partículas muito finas existentes na atmosfera, apresentam diferentes formas e composição química dependendo de sua origem, podendo ser naturais ou de reações químicas atmosféricas. (YU (2004) apud NASCIMENTO, 2015; WHO, 2006; RIBEIRO et al., 2016).

Diversos estudos demonstram que o aumento da poluição impacta de forma negativa na qualidade de vida da população causando diversas doenças. Muitos estudos mostram uma associação entre o MP e patologias cardiovasculares, respiratórias, imunológicas, neurológicas entre outras. Sendo assim, esses estudos mostram uma relação entre a exposição aos MPs e o aumento em internações hospitalares, incidência de doenças e mortalidade (DOCKERY et al., 1993; BRUNEKREEF e HOLGATE, 2002; KAMPA e CASTANAS, 2008; CALDERÓN - GARCIDUENAS et al., 2011; RIBEIRO et al., 2016). Substâncias como pesticidas, metais e até mesmo toxinas produzidas por microrganismos podem ter características neurotóxicas. Tais substâncias invadem o sistema nervoso por meio do processo inalatório do ar ambiental ou ainda pelas vias intranasais, acessando os receptores olfatórios e conseqüentemente regiões do sistema nervoso central (SNC) (WU et al., 2008; DHURIA et al., 2010; PREDIGER et al., 2012; MITTAL et al., 2014).

O comportamento de animais expostos aos MPs, parece ser alvo dos efeitos tóxicos dessas partículas, pois exacerbam a resposta a recompensa imediata, reduzem a capacidade cognitiva e apresentam uma deficiência na memória de curto prazo (ALLEN et al., 2014). Assim, avaliar o comportamento dos animais expostos ao material particulado de granulação 2,5 (MP2.5), com diferentes diluições, contribui para a compreensão de aspectos motores e de aprendizado e memória. A busca em aumentar o conhecimento sobre os efeitos do MP2.5 sobre o sistema nervoso central, poderão auxiliar no desenvolvimento de estratégias tecnológicas/terapêuticas capazes de minimizar diretamente os mecanismos patológicos. A partir disso, o entendimento acerca dos efeitos da exposição ao MP2.5 por instilação intranasal, no comportamento de fêmeas Wistar adultas é o foco do presente estudo.

Os resultados apresentados abaixo são preliminares e fazem parte de um projeto de doutorado.

## 2. METODOLOGIA

Os animais foram fornecidos pelo biotério central da UFPel, mantidos em caixas-moradia, confeccionadas em plexiglass, medindo 65 x 25 x 15 cm, com assoalho recoberto de maravalha. Foram alocados 3 animais por caixa com ciclo claro-escuro de 12 horas, em temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$ ) com livre acesso à água e ração. O número total de animais utilizados nos experimentos foi de 72, as fêmeas divididas de forma aleatória em 3 animais por caixa para cada tratamento (controle, branco, 1:25 e 1:50). Todos os procedimentos necessários para minimizar dor e desconforto foram realizados em todas as etapas do projeto.

Os procedimentos propostos por esse projeto obedecem às normas da Declaração Universal dos Direitos dos Animais (UNESCO - 27 de janeiro de 1978) e os princípios internacionais para a pesquisa biomédica envolvendo animais (GARBER *et al.*, 2011), seguida da Lei de Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei 11794/08). O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal CEEA-14673/ UFPel.

As soluções usadas nos tratamentos, foram diluídas em solução fisiológica, 1g de filtro de branco (sem material particulado) e 1g filtro com a presença do MP2.5. Cada tratamento foi organizado da seguinte forma: controle, solução fisiológica, branco filtro branco, filtro com MP2.5 (1:25 e 1:50).

Os animais receberam marcações na cauda para a identificação. A contenção dos mesmos foi realizada por meio da técnica dos dedos sob o pescoço e após foram instilados com o uso de micropipeta de precisão 1-10 $\mu\text{L}$  na cavidade nasal durante um período de aproximadamente 39 dias. A fim de verificar o efeito da instilação do MP2.5 no comportamento das matrizes, foi realizada a tarefa comportamental: Labirinto em Y “Y maze”. A tarefa do labirinto em Y consistiu em uma única sessão com duração de 8 minutos, onde o animal foi colocado no centro do labirinto, para escolha espontânea do braço de entrada, os braços foram identificados com as letras A, B e C, e cada entrada foi registrada para análise posterior, utilizando uma fórmula para determinar o percentual de acerto (Figura 1).(KRAEUTER *et al.*, 2019). As sessões foram realizadas no Laboratório de Neuropsicofarmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto de Biologia, UFPel, com luminosidade, temperatura e ruídos controlados, as sessões foram filmadas para análise.

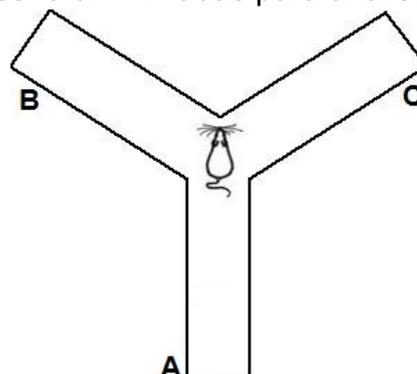


Figura 1. labirinto em Y (Y Maze)

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A via intranasal configura um trajeto importante para as substâncias presentes na atmosfera ao SNC, sugerido em estudos que mostram a detecção de MP em estruturas cerebrais a partir dessa via (ALSARRA et al., 2011).

Na tarefa do labirinto em Y, após as fêmeas serem instiladas com MP2.5, foi observada a entrada do animal em cada braço e considerado acerto cada vez que o animal entrava em 3 diferentes braços sem repetição. Os resultados foram apresentados em porcentagem é obtido por meio da fórmula: Alterações espontâneas (%) = número de acertos / número total de entradas - 2 X100. A análise estatística foi por meio do teste de ANOVA de uma via, seguida do *post hoc* de Bonferroni. O nível de significância foi fixado em  $p = 0,05$ .

Os resultados das matrizes instiladas para avaliação da memória espacial e aprendizado não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quando comparados os grupos controle, branco, 1:25 e 1:50 (Figura 2). Este dado está em conformidade com a literatura que indica que animais adultos sofrem pouca influência no comportamento quando expostos ao MP. No entanto, podem apresentar alterações na homeostasia celular relacionadas às patologias neurológicas, tais como Alzheimer, depressão e deficiência no aprendizado e memória (CALDERÓN-GARCIDUENAS et al., 2011; FONKEN et al. 2011; ALLEN et al., 2014 a; ALLEN et al., 2014 b; BAIER et al., 2017; KRAEUTER et al., 2019).

O efeito de poluição atmosférica causado por ações antrópicas é um fator de risco das condições de saúde, e o material particulado é um componente em destaque desta condição, desta forma, é de suma importância monitorar a composição e as ações do mesmo para poder levantar medidas preventivas (BRITO et al., 2018).

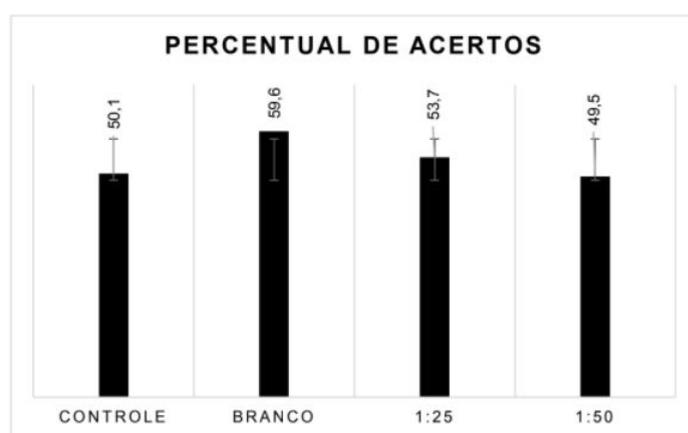


Figura 2. Percentual de acertos em labirinto em Y.

### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos concordam com os estudos previamente conduzidos, porém entendemos que a continuidade das investigações se faz necessária para auxiliar no entendimento dos mecanismos envolvidos na interação do MP2.5 com o sistema nervoso central e suas implicações na homeostasia.

Apoio Financeiro: CNPq – bolsista PIBIC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, J.L.; LIU, X.; WESTON, D.; PRINCE, L.; ORSTER, G.O.; JACOB N. FINKELSTEIN, J.N.; JOHNSTON, C.J.; CORY-SLECHTA, D.A. Developmental Exposure to Concentrated Ambient Ultrafine Particulate Matter Air Pollution in Mice Results in Persistent and Sex-Dependent Behavioral Neurotoxicity and Glial Activation. *TOXICOLOGICAL SCIENCES*, 2014.

BRITO, P. H. F; ARAÚJO, G.; R. S.; SILVA, M. M. Composição química do material particulado atmosférico: uma revisão de literatura. *Holos*, 2018.

BRUNEKREEF, B; HOLGATE, S. T. Air pollution and health. *Lancet*, 2002.

CALDERÓN-GARCIDUENAS, L; D'ANGIULLI, A; KULESZA, R. J; TORRES - DOCKERY, D.W; POPE, C. A; XU, X; SPENGLER, J. D; WARE, J. H; FAY, M. E; FERRIS, B. G; SPEIZER, F. E. An Association between Air Pollution and Mortality in Six U.S. Cities. *The New England Journal of Medicine*, 1993.

DHURIA, S.V., HANSON, L.R., FREY 2ND W.H. Intranasal delivery to the central nervous system: mechanisms and experimental considerations. *J. Pharm. Sci.* 2010.

KAMPA, M.; CASTANAS, E. Human health effects of air pollution. *Environmental Pollution*, 2008.

KRAEUTER, A.; GUEST, P.C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. Paul C., *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols, Methods in Molecular Biology*, 2019.

NASCIMENTO, A.P. Influência da poluição atmosférica por SO<sub>2</sub>, MP<sub>10</sub>, MP<sub>2.5</sub> e sua composição elementar na incidência de doença respiratória aguda em crianças. Tese de Doutorado/PPEACT/UFES - Vitória, 2015.

PREDIGER, R.D., AGUIAR JR., A.S., MATHEUS, F.C., WALZ, R., ANTOURY, L., RAISMAN-VOZARI, R., DOTY, R.L. Intranasal administration of neurotoxicants in animals: support for the olfactory vector hypothesis of Parkinson's disease. *Neurotox. Res.*, 2012.

RIBEIRO, J.P.; KALB, A.C.; CAMPOS, P.P.; DE LA CRUZ, A.R.H.; MARTINEZ, P.E.; GIODA, A.; SOUZA, M. M.; GIODA, C.R. Toxicological effects of particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) on rats: Bioaccumulation, antioxidant alterations, lipid damage, and ABC transporter activity. *Chemosphere*, 2016.

WU, H., HU, K., JIANG, X. From nose to brain: understanding transport capacity and transport rate of drugs. *Expert Opin. Drug Deliv*, 2008.

YU, L.E., The effect of primary particle size on biodistribution of inhaled gold nano-agglomerates, *Biomaterials*, 2004.