



Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação

EXPOSIÇÃO EXPERIMENTAL AO METANOL AUMENTA COMPORTAMENTO AGRESSIVO EM ZEBRAFISH (*DANIO RERIO* HAMILTON 1822) DE FORMA DEPENDENTE DE LINHAGEM

Hellen Barbosa¹ - UEPA
Monica Gomes Lima² - UEPA
Caio Maximino de Oliveira³ - Unifesspa

Eixo Temático/Área de Conhecimento: Toxicologia

1. INTRODUÇÃO

O metanol (MetOH) é um solvente orgânico comumente utilizado na indústria e em laboratórios científicos. A grande disponibilidade e facilidade de aquisição deste álcool resulta em alta frequência de envenenamentos acidentais ou intencionais (SKRZYDLEWSKA, 2003). No Brasil, intoxicações por MetOH também ocorrem pelo consumo de cachaças artesanais (CARUSO; NAGATO; ALABURDA, 2010). Após o envenenamento por metanol, uma síndrome de intoxicação se instala, caracterizada por um período de depressão moderada do sistema nervoso central, seguida de um período assintomático de 12 a 24 h (SKRZYDLEWSKA, 2003). Após esse período, observa-se acidose metabólica e alterações no sistema nervoso central (SKRZYDLEWSKA, 2003). Entretanto, há uma grande variabilidade na susceptibilidade dos indivíduos à intoxicação por metanol; possíveis motivos incluem o consumo concomitante de etanol, diferenças no conteúdo dietário de folato, ou diferenças na atividades dos sistemas de metabolismo do MetOH (SKRZYDLEWSKA, 2003). Considerando que o metabolismo do metanol produz intermediários oxidativos, e que esses intermediários foram implicados nos efeitos comportamentais de intoxicantes ambientais em modelos animais (MAXIMINO et al., 2011; PUTY et al., 2014), um efeito do MetOH – possivelmente mediado por radicais livres – sobre variáveis comportamentais é sugerido.

O zebrafish (*Danio rerio* Hamilton 1822) é um peixe teleosteo bastante utilizado como organismo-modelo em farmacologia e toxicologia (RICO et al., 2011; SPITSBERGEN; KENT, 2003). Apresenta um padrão de comportamento agressivo bem definido (OLIVEIRA, 2013), comportamento esse que já foi utilizado para avaliar os efeitos da intoxicação por etanol (GERLAI et al., 2000). Nessa espécie, a intoxicação por MetOH diminui a atividade da enzima acetilcolinesterase cerebral em concentração baixa (0,25% v/v) após exposição por via hídrica, com inibição da atividade de ecto-nucleotidases em concentrações maiores (RICO et al., 2006). Diferenças comportamentais entre linhagens distintas dessa espécie foram observadas (EGAN et al., 2009; MAXIMINO et al., 2013), sugerindo variabilidade individual que pode ser explorada para investigar diferenças na susceptibilidade à intoxicação com MetOH. Assim, o objetivo do presente trabalho é investigar o efeito do MetOH sobre o comportamentais agressivo de duas linhagens de zebrafish, *leopard* e *longfin*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

15 animais da linhagem *longfin* e 16 animais da linhagem *shortfin* foram utilizados nos experimentos. Os animais foram adquiridos em lojas de aquarismo e mantidos em laboratório por >2 semanas antes do início dos experimentos; os animais foram mantidos sob condições-padrão para a espécie (LAWRENCE, 2007). Os animais foram expostos individualmente a água pura ou metanol (0,25%) por 24

¹ Graduanda do Curso de Bacharelado em Biomedicina (CCBS/UEPA-Marabá). Bolsista do Programa de Monitoria da UEPA. E-mail: hellen_barbosa11@hotmail.com

² Doutora em Neurociências e Biologia Celular pela UFPA. Professora Assistente da Universidade do Estado do Pará (CCBS/UEPA-Marabá). E-mail: monica.lima@uepa.br

³ Doutor em Neurociências e Biologia Celular pela UFPA. Professor Adjunto da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (FACISB/IESB/Unifesspa). E-mail: cmaximino@unifesspa.edu.br

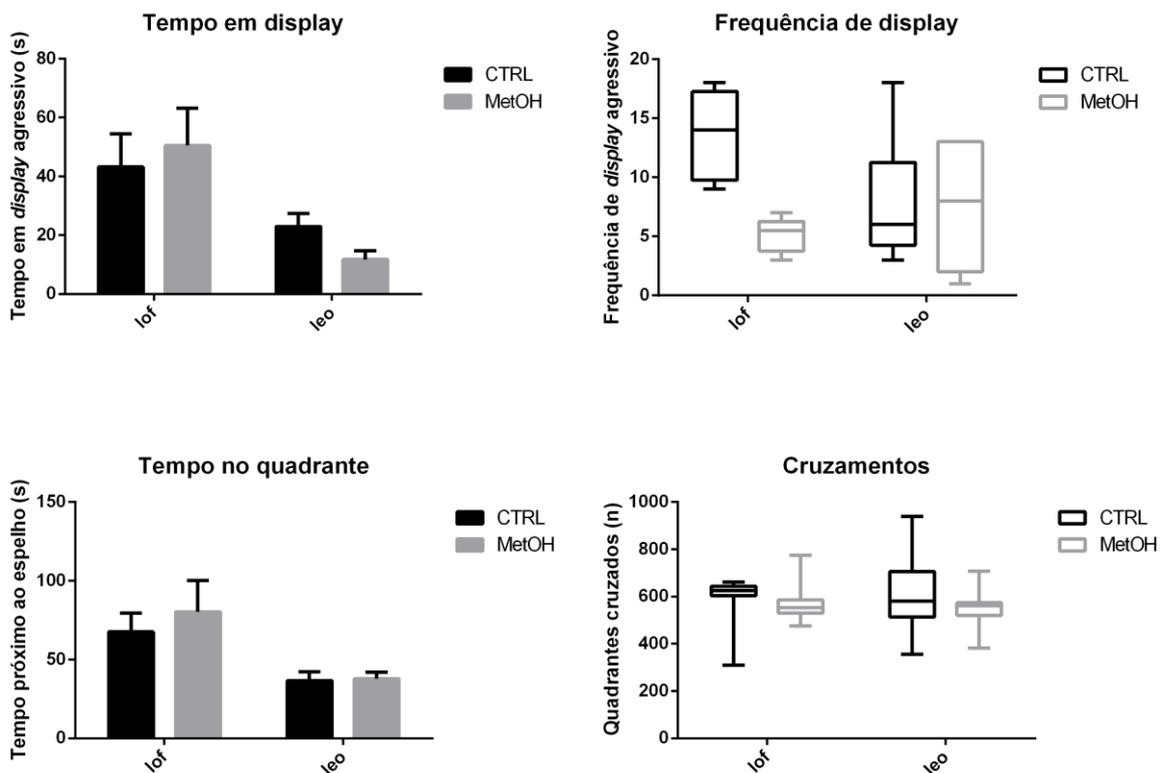
Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação

h antes do início do teste comportamental. Os animais foram então transferidos individualmente para um aquário (15 x 10 x 30 cm) com água pura. Após um período de aclimatação de 5 min, um espelho foi posicionado do lado de fora do aquário em ângulo de 22,5° (GERLAI et al., 2000) ; o comportamento dos animais foi então gravado em webcam, e os vídeos foram posteriormente analisados através do programa X-Plo-Rat 2015. As seguintes variáveis foram analisadas: tempo no quadrante mais próximo ao espelho; frequência e duração de *display* agressivo (definido como postura com nadadeiras dorsal, caudal, peitorais e anal eretas); e número total de quadrantes cruzados. Os dados foram analisados por ANOVAs de duas vias (linhagem X tratamento), com p-valor < 0,05 considerado estatisticamente significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Animais da linhagem *longfin* apresentaram maior tempo em *display* do que animais da linhagem *leopard* ($F_{1, 27} = 11,63$, $p = 0,0019$), sem efeito da intoxicação ($F_{1, 27} = 0,05$, NS). As frequências basais de *display* não diferiram entre as linhagens ($F_{1, 23} = 1,36$, NS), mas os animais da linhagem *longfin* apresentaram diminuição da frequência de *display* após intoxicação ($F_{1, 23} = 6,57$, $p = 0,0174$ para o termo de interação). Animais da linhagem *longfin* passaram mais tempo próximos ao espelho do que animais da linhagem *leopard* ($F_{1, 27} = 10,16$, $p = 0,0036$), sem efeito da intoxicação ($F_{1, 27} = 0,37$, NS). Finalmente, não foram observados efeitos da linhagem ($F_{1, 25} = 0,0037$, NS) ou da intoxicação ($F_{1, 25} = 0,46$, NS) sobre o número total de quadrantes cruzados. A Figura 1 resume os resultados.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esses resultados sugerem diferenças de linhagem nos efeitos comportamentais da intoxicação aguda por metanol em zebrafish. Além disso, essas diferenças não são melhor explicadas por variabilidade inter-populações no comportamento agressivo. Experimentos futuros investigarão diferenças na expressão e/ou atividade de enzimas do metabolismo do metanol nessas linhagens.



Unifesspa - 21 a 25 de Setembro de 2015

I Seminário de Projetos Integrados
I Jornada de Extensão
I Seminário de Iniciação Científica
I Encontro de Pós-Graduação

5. REFERÊNCIAS

- CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F.; ALABURDA, J. Benzo(a)pireno, carbamato de etila e metanol em cachaças. **Química Nova**, v. 33, p. 1973–1976, 2010.
- EGAN, R. J. et al. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. **Behavioural Brain Research**, v. 205, p. 38–44, 2009.
- GERLAI, R. et al. Drinks like a fish: Zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 67, p. 773–782, 2000.
- LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. **Aquaculture**, v. 269, p. 1–20, 2007.
- MAXIMINO, C. et al. Possible role of serotonergic system in the neurobehavioral impairment induced by acute methylmercury exposure in zebrafish (*Danio rerio*). **Neurotoxicology and Teratology**, v. 33, p. 727–734, 2011.
- MAXIMINO, C. et al. Behavioral and neurochemical changes in the zebrafish leopard strain. **Genes, Brain and Behavior**, v. 12, p. 576–582, 2013.
- OLIVEIRA, R. F. Mind the fish: Zebrafish as a model in cognitive social neuroscience. **Frontiers in Neural Circuits**, v. 7, p. Article 131, 2013.
- PUTY, B. et al. Ascorbic acid protects against angiogenic-like effect induced by methylmercury in zebrafish: Action on the serotonergic system. **Zebrafish**, v. 11, p. 365–370, 2014.
- RICO, E. P. et al. **Methanol alters ecto-nucleotidases and acetylcholinesterase in zebrafish brain**. v. 28, p. 489–496, 2006.
- RICO, E. P. et al. Zebrafish neurotransmitter systems as potential pharmacological and toxicological targets. **Neurotoxicology and Teratology**, 2011.
- SKRZYDLEWSKA, E. Toxicological and metabolic consequences of methanol poisoning. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 11, p. 277–293, 2003.
- SPITSBERGEN, J. M.; KENT, M. L. The state of the art of the zebrafish model for toxicology and toxicologic pathology research - Advantages and current limitations. **Toxicologic Pathology**, v. 31, p. 62–87, 2003.