

Íris Sofia Ferreira da Silva Lopes

Os Pesticidas no Sistema Nervoso das Crianças

A Actuação dos Organofosforados no Desenvolvimento Cognitivo

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Saul Campos Pereira Costa e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Íris Sofia Ferreira da Silva Lopes, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009197, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho de 2014.

(Íris Sofia Ferreira da Silva Lopes)

O Tutor da Faculdade

Saul Campos Pereira de Costa

(Professor Doutor Saul Campos Pereira Costa)

A aluna

Íris Sofia Ferreira da Silva Lopes

(Íris Sofia Ferreira da Silva Lopes)

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Saul Costa pela sua disponibilidade, sinceridade e prontidão em ajudar-me nesta tarefa,

Aos meus Pais e ao meu Irmão pelo esforço feito ao longo destes cinco anos,

À minha Madrinha por tudo o que tem feito por mim

E aos meus Amigos, sem os quais este percurso não teria tido o mesmo significado.

Para ti Vó

Resumo

O uso de pesticidas organofosforados tem aumentado nas últimas décadas após terem sido banidos outros pesticidas mais nefastos para a saúde humana. Mas serão os pesticidas organofosforados assim tão seguros? Este trabalho pretende evidenciar os resultados de alguns estudos que se focaram em estudar os efeitos da exposição crónica a estes compostos a baixos níveis. Em vários estudos foi referido que os níveis avaliados se encontravam na média dos níveis medidos na população em geral. É importante saber quais os efeitos nefastos que podem advir da exposição a estes compostos, principalmente em populações susceptíveis, tais como grávidas e crianças, onde este trabalho se foca. Nos estudos mais recentes têm sido apontados diversos distúrbios cognitivos tais como diminuição do quociente de inteligência (QI), autismo, hiperactividade e défice de atenção.

Abstract

The use of organophosphate pesticides has increased in recent decades after being banned other pesticides more harmful to human health. But are the pesticides organophosphates as well as safe? This work intends to highlight the results of some studies that focused on studying the effects of chronic exposure to these compounds at low levels. In several studies indicated that levels were evaluated at the average of the measured levels in the general population. It is important to know what the adverse effects that may result from exposure to these compounds, especially in susceptible populations, such as pregnant women and children, where this work focuses. In more recent studies have been singled out several cognitive disorders such as decreased intelligence quotient, autism, attention deficit and hyperactivity.

Índice

Resumo	4
Abstract	5
Introdução	7
Princípios Gerais de Toxicologia	8
Absorção, Distribuição e Excreção	9
Metabolismo/Biotransformação	12
Sistema Nervoso	13
O Neurónio e a Nevrógia	13
O Impulso Nervoso	14
A Sinapse	14
Tipos de Neurónios	15
Pesticidas	16
Classificação dos Pesticidas	16
Pesticidas Anticolinesterase	17
Propriedades físico-químicas	18
Local e mecanismo de toxicidade	18
Exposição, Absorção, Distribuição e Excreção	18
Passagem dos pesticidas por barreiras especializadas	19
Sinais e Sintomas do envenenamento por pesticidas anticolinesterase	20
Diagnóstico e Tratamento	21
A influência dos pesticidas organofosforados no desenvolvimento cognitivo das crianças	21
Conclusão	29
Bibliografia	30

Lista de Abreviaturas

- QI – Quociente de Inteligência
DDT – Diclorodifeniltricloroetano
SN – Sistema Nervoso
SNC – Sistema Nervoso Central
SNP – Sistema Nervoso Periférico
SNA – Sistema Nervoso Autônomo
IN – Impulso Nervoso
GABA – *Gamma Aminobutyric Acid*
OPDIN - *Organophosphate-induced delayed neurophaty*
NTE - *Neuropathy Target Esterase*
ADHD – *Attention-Deficit Hyperactivity Disorder*
CPF – Clorpirifos
PON-I – Paraoxonase I
DEP – Dietilfosfatos
DMP – Dimetilfosfatos
DAP – Dialquilfosfatos
BSID-II – *Bayley Scales of Infant Development, 2nd edition*
MDI – *Mental Development Index*
PDI – *Psychomotor Development Index*
WPPSI-III – *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, 3rd edition*
WISC-IV – *Wechsler Intelligence Scale for Children, 4th edition*
SNPs –*Single Nucleotide Polymorphisms*
HDL – *High Density Lipoproteins*
LDL – *Low Density Lipoproteins*
FSIQ – *Full-Scale Intelligence Quotient*
CBCL – *Child Behavior Checklist*
NEPSY-II – *Developmental Neuropsychological Assessment*
K-CPT – *Conners' Kiddie Continuous Performance*

Introdução

A descoberta de substâncias capazes de controlar pragas agrícolas é quase tão antiga como a própria agricultura. Num mundo moderno, onde a produção agrícola deverá ser rentabilizada ao máximo, o uso de pesticidas tornou-se a forma mais fácil, mais económica e mais eficaz de combater as pragas e aumentar a produção.

No entanto, concomitantemente com o aparecimento dos pesticidas modernos, vários tipos de efeitos adversos começaram a ser detetados nas diferentes populações do ecossistema. Um exemplo comumente citado é o do DDT, um pesticida organoclorado, usado para erradicar o mosquito responsável pela transmissão da malária, que anos mais tarde se revelou responsável pelo aparecimento de várias doenças. Há, ainda, muitos pesticidas que não conhecemos verdadeiramente os seus efeitos a longo prazo e que continuam a ser extensivamente usados. Os registos de substâncias químicas reconhecidas como neurotóxicas duplicaram nos últimos 7 anos (Grandjean and Landrigan, 2014).

A restrição ao uso de pesticidas persistentes, devido aos seus efeitos nefastos, conduziu a diversas alternativas, com destaque para os pesticidas organofosforados, carbamatos e piretóides que se revelam eficazes no controlo de pragas em culturas e no uso doméstico. Contudo, o uso intensivo destes compostos representa uma ameaça real para a saúde pública. É de ter em conta que a exposição a estes compostos não afecta apenas os indivíduos que com eles trabalham, mas também o resto da população é exposta a baixos níveis através dos alimentos e do ambiente envolvente. Há evidências científicas de efeitos carcinogénicos, neurológicos, reprodutivos, imunológicos e genotóxicos associados à exposição de pesticidas não persistentes em adultos. No entanto, há pouca informação sobre os efeitos que esta exposição pode provocar às crianças e fetos em desenvolvimento.

Este trabalho foca-se num subgrupo de pesticidas, os organofosforados, actualmente a ser estudado sobre os efeitos que a sua exposição crónica a baixas concentrações provoca. Os resultados são preocupantes e devem ser tomadas medidas para que a exposição a estes agentes seja reduzida ao mínimo. Nomeadamente, um maior controlo da sua utilização nos países em desenvolvimento, onde a legislação sobre os pesticidas é escassa e muitas vezes não é cumprida, assim como a exigência de uma bateria de testes que comprovem a sua inocuidade no ser Humano.

Princípios Gerais de Toxicologia

A toxicologia é o estudo dos efeitos adversos dos químicos nos organismos vivos, aos quais vulgarmente chamamos de tóxicos. Estes efeitos não têm relevância a menos que o agente ou os seus produtos metabólicos alcancem os locais alvo numa concentração e tempo suficientes para induzirem manifestações tóxicas. De forma a podermos caracterizar

correctamente o perigo que um agente químico acarreta, temos de saber o efeito que ele produz e a dose necessária para tal, para além de variadas informações sobre o agente, a exposição e a predisposição do indivíduo.

As principais vias de exposição aos agentes tóxicos são o tracto gastrointestinal, pele, pulmões e outras vias parentéricas, sendo que a via pela qual produzem o seu efeito máximo e resposta mais célere é a intravenosa. Por ordem decrescente de efeito, podemos referir a via inalatória, intraperitoneal, subcutânea, intramuscular, intradérmica, oral e dérmica.

A exposição ocupacional pode resultar da respiração de ar contaminado ou do contacto directo e prolongado da pele com o agente. Por outro lado, o envenenamento accidental e o suicídio ocorrem com mais frequência por via oral.

A toxicidade do agente é condicionada pela concentração do mesmo no veículo escolhido, do volume total e propriedades desse veículo e a frequência da exposição do sistema biológico ao agente tóxico.

De uma forma geral, a exposição aos químicos é dividida em quatro grupos: aguda, sub-aguda, subcrónica e crónica, sendo que diferem entre eles pelo intervalo temporal da exposição. A exposição aguda refere-se a um período temporal inferior a 24 horas e a crónica superior a 3 meses. A exposição sub-aguda prolonga-se por 1 mês ou menos e a sub-crónica entre 1 a 3 meses. Os efeitos tóxicos observados com uma única exposição, na maioria dos casos, são muito diferentes daqueles que uma exposição repetida poderá produzir. Uma exposição aguda de um agente rapidamente absorvido poderá provocar efeitos imediatos (toxicidade imediata), no entanto também poderá apenas produzir efeito passado algum tempo (toxicidade retardada), que pode ser ou não idêntico aos efeitos da exposição crónica.

Para além da caracterização temporal da exposição, também é importante a frequência da administração do agente tóxico. Os efeitos que o químico tem quando a dose total é administrada de uma só vez, podem não ser os mesmos que se observam quando a dose é repartida e administrada de forma intervalada. É possível no entanto que ocorram lesões celulares ou teciduais a cada dose, apesar de tóxico não se acumular no organismo. Desta forma, o importante é que o intervalo entre as doses seja o suficiente para que haja regeneração do tecido lesado.

Absorção, Distribuição e Excreção

Como já foi dito anteriormente, a intensidade do efeito tóxico depende em primeira linha da concentração e da persistência do tóxico final no local de acção. O tóxico final é o agente químico que reage com a molécula alvo, iniciando as alterações que resultam na sua toxicidade, estas alterações tanto podem ser estruturais como funcionais. Na maioria dos casos, o tóxico final é a substância química à qual o sistema biológico esteve exposto. Noutros,

será um metabolito do composto original ou uma espécie reactiva de oxigénio que resultou da sua biotransformação.

Existem processos que aumentam e também diminuem a concentração do tóxico final no local alvo. A concentração do tóxico no seu destino final depende da eficácia destes processos. A acumulação é facilitada por processos como a absorção, distribuição, reabsorção e activação metabólica. Por outro lado, a eliminação pré sistémica, a redistribuição, a excreção e a destoxicação favorecem a via contrária.

Processos que favorecem a acumulação no destino final:

- **Absorção:** caracteriza-se pela transferência do agente do seu local de exposição para a circulação sistémica. Grande parte dos tóxicos atravessa o epitélio por difusão através das células, alcançando os capilares sanguíneos. A taxa de absorção depende da concentração do composto, o tempo de exposição e a sua solubilidade. Outras características importantes para o sucesso da absorção são a área de exposição, as características do epitélio, a microcirculação sub-epitelial, assim como as características físico-químicas do agente. De forma geral, os compostos lipossolúveis são absorvidos mais rapidamente do que os hidrossolúveis.

- **Distribuição para o órgão alvo:** durante a distribuição os compostos tóxicos passam do sangue para o líquido extracelular, podendo assim penetrar nas células. Estes compostos que se encontram dissolvidos no líquido extracelular podem atravessar o endotélio por difusão ou através dos espaços existentes. Os compostos lipossolúveis penetram mais facilmente por difusão na célula. Opondo-se a estes, os agentes polarizados e hidrofílicos mantêm-se no espaço extracelular, a menos que haja mecanismos específicos para eles. É através do processo de distribuição que os agentes tóxicos chegam ao seu local de acção. Podem também ser distribuídos até ao local de metabolismo onde se transformam em tóxicos, num processo designado de bioactivação. A distribuição dos compostos tóxicos até ao seu órgão alvo pode ser acelerada por diversos mecanismos, são eles: porosidade do endotélio capilar, transporte especializado na membrana e ligação intracelular reversível (a melanina, sendo um polímero aromático polianiónico consegue ligar-se a catiões inorgânicos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, promovendo a sua acumulação dentro da célula).

- **Reabsorção:** durante o processo de formação de urina, existe uma fase em que há reabsorção de compostos. A reabsorção por difusão depende da lipossolubilidade do composto, sendo que a difusão de bases e ácidos orgânicos é inversamente proporcional à sua ionização (moléculas não ionizadas são mais lipossolúveis). Há vários métodos que podem ser usados para excretar especificamente algum composto nocivo. Sabemos que a acidificação da

urina favorece a excreção de bases orgânicas fracas, enquanto a alcalinização promove a eliminação de ácidos orgânicos fracos. Os agentes tóxicos libertados pelo tracto gastrointestinal (secreção salivar, gástrica, biliar e pâncreas exócrino) podem ser reabsorvidos na mucosa intestinal. Os compostos excretados na bÍlis são, de forma geral, ácidos orgânicos, logo a sua reabsorção apenas é possível se forem lipossolúveis o suficiente ou forem convertidos numa forma mais lipossolúvel no lúmen intestinal.

- **Toxicação:** na maioria dos casos, a toxicidade do agente é directa, enquanto noutros esta depende de uma bioactivação, sendo os metabolitos do agente original os verdadeiros tóxicos. Esta bioactivação, ou biotransformação, é designada de toxicação. A toxicação pode induzir várias modificações no agente que irão posteriormente induzir a toxicidade. Podem adquirir características estruturais e reactividade que permitem uma interacção mais eficaz ou tornarem-se indiscriminadamente reactivos contra moléculas endógenas com grupos químicos específicos. A reactividade pode ser devida à formação de electrófilos, radicais livres, nucleófilos e ainda radicais redox activos.

Processos que se opõem à acumulação no destino final:

- **Eliminação pré-sistémica:** os compostos tóxicos podem ser eliminados quando passam através da mucosa gastrointestinal ou fígado, ficando reduzida a sua disponibilidade sistémica e reduzindo os efeitos tóxicos. No entanto, esta eliminação pode ser prejudicial e contribuir para uma lesão preferencial destes tecidos.

- **Mecanismos que se opõem à distribuição para o alvo:** a forte **ligação às proteínas plasmáticas** é um entrave para a difusão para as células. Para que ocorra a difusão é necessário que os agentes tóxicos se dissociem das proteínas plasmáticas, caso não consigam ficam retidas no plasma, não chegando ao seu destino final. Existem também as **barreiras especializadas**, tais como a barreira hematoencefálica e a placenta. O endotélio capilar do cérebro não é fenestrado, sendo difícil a passagem de substâncias hidrofílicas para o cérebro. Desta forma, o endotélio impede a passagem das substâncias hidrofílicas, excepto daquelas que podem ser activamente transportadas. A transferência de compostos hidrofílicos através da placenta também é restrita. Uma desvantagem destas barreiras é que não são eficazes contra compostos lipofílicos. A distribuição para os **locais de armazenamento** diminui a disponibilidade sistémica do tóxico, diminuindo também a quantidade que chega ao órgão alvo. Estes locais funcionam como um mecanismo protector, apesar de ser temporário. É importante dizer que a quantidade armazenada está sempre em equilíbrio com a fracção livre de tóxico no plasma. Assim, conforme o tóxico vai sendo excretado pelo organismo, vai-se libertando uma quantidade equivalente dos locais de armazenamento. Este processo

confere uma semi-vida mais longa ao composto em questão. Actuam como depósito as proteínas plasmáticas, o fígado, os rins, o tecido adiposo e o tecido ósseo. A **ligação com proteínas intracelulares** é outro método para diminuir a quantidade de tóxico que chega ao alvo. Por último podemos também referir a exocitose dos tóxicos para o espaço extracelular.

- **Excreção:** a excreção é um processo físico pelo qual se faz a remoção de um composto do sangue para o meio externo. Para compostos não voláteis, podemos contar com o rim e o fígado como órgãos excretadores por excelência. A taxa e via de excreção variam conforme as características físico químicas do composto. O fígado e o rim podem apenas remover compostos muito hidrofílicos (substâncias ionizadas: ácidos e bases orgânicas). Para agentes lipofílicos não existem mecanismos de excreção tão eficientes, podemos no entanto referir três processos que ocorrem para tentar eliminar estes compostos: excreção pela glândula mamária (dissolução nos lípidos do leite), pela biliar (ligação com micelas biliares) e intestinal. Tóxicos voláteis como gases ou líquidos voláteis difundem directamente dos capilares pulmonares para os alvéolos, sendo desta forma exalados.

- **Destoxicação:** a destoxicação pode ser caracterizada como o conjunto de processos que eliminam o tóxico ou previnem a sua formação. Podem seguir variadas vias, dependendo da natureza química do agente: destoxicação de agentes sem grupo funcional, de nucleófilos, electrófilos, radicais livres e toxinas proteicas. Nalguns casos, a destoxicação pode competir com a toxicação. Quando a taxa de toxicação é superior à de destoxicação há uma falha deste último processo. A reversão de algumas reacções de conjugação e a formação de produtos mais tóxicos através da destoxicação também contribuem para o insucesso deste processo.

Metabolismo/Biotransformação

Todos os organismos estão constantemente expostos a compostos químicos estranhos, estes podem ser naturais ou de síntese, tal como os pesticidas. De uma forma geral, a propriedade físico-química que permite a sua extensa absorção pelos organismos é também aquela que dificulta a sua excreção. Estamos a falar da lipossolubilidade destes compostos. Não sendo possível a sua excreção através do rim ou do fígado (órgãos excretadores por excelência), esta tem de ser realizada por outros métodos. É aqui que entra a biotransformação ou metabolismo dos compostos tóxicos.

As reacções catalisadas no processo de biotransformação são divididas em dois grupos. As reacções de Fase I incluem as reacções de oxidação, redução e hidrólise. Estas reacções introduzem ou expõem um grupo funcional hidrofílico, contribuindo assim para o aumento da

hidrofilia da molécula. Passando às reacções de Fase II, que incluem diversas reacções tais como a glucoronidação, sulfatação, acetilação, metilação, conjugação com a glutatona e também com aminoácidos. Os grupos funcionais dos tóxicos (que foram introduzidos/expostos nas reacções de fase I) reagem com os cofactores das reacções de fase II, resultando na maioria dos casos num aumento da hidrofilia e assim na eliminação dos compostos tóxicos.

De forma geral, as reacções de fase II podem ser, ou não, precedidas pelas de fase I, no entanto, salvo raras excepções, as de fase II não precedem as de fase I. (Klaassen and Watkins, 2001)

Sistema Nervoso

O Sistema Nervoso (SN) regula tanto as mais simples como as mais complexas actividades do nosso dia-a-dia através da transmissão do impulso nervoso. Estes impulsos regulam o funcionamento do organismo permitindo-nos, através dos órgãos sensoriais, sentir o que nos rodeia e responder de forma adequada.

O Sistema Nervoso é composto de duas partes: o Sistema Nervoso Central (SNC), que engloba o encéfalo e a espinal medula; e o Sistema Nervoso Periférico (SNP), consistindo este nos nervos cranianos e raquidianos. O SNP inclui também o Sistema Nervoso Autónomo (SNA). O SNP é responsável pelo transporte da informação de, e para, o SNC. O encéfalo é o centro de todo este processo, sendo responsável pelo processamento da informação recebida e pela resposta gerada em relação ao estímulo.

O Neurónio e a Nevrógia

A unidade funcional do Sistema Nervoso é o neurónio, ou célula nervosa. Estes recebem os estímulos nervosos e transmitem os potenciais de acção para outros neurónios ou então para os órgãos efectores. Estas unidades funcionais organizam-se em redes complexas para permitir a funcionalidade do SN.

O neurónio é constituído de uma forma geral pelo corpo celular, dendritos e axónios. O corpo celular contém o núcleo da célula, essencial para a sua sobrevivência, para além de outros organitos celulares e localiza-se preferencialmente no SNC ou próximo dele, uma vez que aqui se encontram mais protegidos devido à proximidade de ossos. Em locais mais susceptíveis de dano, como os braços, não há corpos celulares.

Para além dos neurónios existe um conjunto de outras células, a Nevrógia, que tem inúmeras funções: suporte ao SNC, produção de líquido cefalorraquidiano, formação de bainhas de mielina, fagocitose de corpos estranhos e formação da barreira hematoencefálica.

No SNP podemos encontrar as células de Schwann em volta dos axónios formando uma bainha de mielina. A mielina protege e isola os axónios uns dos outros, para além de

permitir a propagação mais rápida do Impulso Nervoso (IN). Os espaços existentes entre as células de Schwann receberam o nome de Nódulos de Ranvier e é apenas nestes nódulos que ocorre a despolarização da membrana nos neurónios mielinizados, explicando assim a propagação mais rápida do IN nestes.

O Impulso Nervoso

De uma forma simples, um neurónio que não está a transmitir um IN está num estado de polarização, com iões Na^+ abundantes no espaço extracelular e iões K^+ e outros iões negativos no espaço intracelular. Este fenómeno faz com que o neurónio tenha uma carga positiva no exterior e uma carga negativa relativa no interior.

O contacto com um neurotransmissor ou outro estímulo torna a membrana permeável a iões Na^+ , que se deslocam assim para dentro da célula devido a um gradiente de concentração. Este movimento de electrões para dentro da célula provoca uma mudança das cargas da membrana, provocando assim a despolarização da célula. Desta forma, o exterior da célula tem agora uma carga negativa enquanto o interior tem uma carga positiva.

Assim que ocorre a despolarização ocorre outro evento na célula: esta torna-se permeável aos iões K^+ , que por gradiente de concentração saem da célula. A bomba de sódio e potássio é então activada e os iões Na^+ voltam ao interior da célula enquanto os iões K^+ voltam ao exterior. À despolarização seguida da repolarização referimo-nos como potencial de acção. Nesta fase o neurónio está pronto para responder a outro estímulo.

O potencial de acção acontece muito rapidamente e é medido em milisegundos. Um neurónio, por si só, é capaz de transmitir centenas de IN's por cada segundo. A presença das bainhas de mielina faz com que a transmissão do IN seja muito rápida, uma vez que só os nódulos de Ranvier é que despolarizam. Este fenómeno chama-se de condução saltatória.

Nas sinapses, o IN passa de eléctrico para químico, havendo libertação de neurotransmissores. Apesar de a difusão dos neurotransmissores ser lenta, as sinapses são tão pequenas que este atraso não afecta de forma significativa a velocidade do impulso.

A Sinapse

Os potenciais de acção de um neurónio podem gerar potenciais de acção noutros neurónios desde que haja comunicação entre eles. A sinapse não é nada mais do que o espaço entre os terminais pré-sinápticos de um neurónio e os dendritos de outro. Com a chegada do IN aos terminais pré-sinápticos, o neurónio liberta um neurotransmissor químico para a sinapse. Este vai-se difundir e ligar ao seu receptor específico no neurónio pós-sináptico. Esta ligação vai gerar um IN no neurónio pós-sináptico e assim sucessivamente até chegar ao seu destino.

Para prevenir IN contínuos, existem inactivadores específicos para cada neurotransmissor, degradando-o e permitindo a sua “reciclagem”. Uma característica importante das sinapses é assegurarem que o IN é unidireccional. Isto é, o impulso não consegue voltar atrás uma vez que não há libertação de neurotransmissores pelos dendritos ou corpo celular do neurónio e os neurotransmissores também só podem ser libertados pelo axónio, não tendo este um local de recepção para os neurotransmissores.

Um exemplo de um neurotransmissor é a acetilcolina. Este neurotransmissor pode ser encontrado no SNC, nas junções neuromusculares e também no SNP. O seu inactivador é a colinesterase. A dopamina, o glutamato, a serotonina, o GABA e a norepinefrina são outros neurotransmissores conhecidos do SNC e cada um deles tem o seu inibidor respectivo. Alguns neurotransmissores são reabsorvidos sendo inibido dessa forma o seu efeito. A este processo chama-se reuptake.

Tipos de Neurónios

Os neurónios podem ser classificados em três grupos distintos: neurónios motores, sensoriais e interneurónios. Os neurónios sensoriais, ou aferentes, transmitem os IN desde os receptores até ao SNC. Estes impulsos são resultado da detecção das alterações pelos receptores. Quando a informação chega ao SNC, este interpreta os impulsos como uma sensação. Os neurónios sensoriais que transmitem o impulso através dos receptores da pele, músculo-esquelético e articulações são chamados de somáticos, já os que estão ligados a receptores de órgãos internos recebem o nome de neurónios sensitivos viscerais.

Os neurónios motores, também conhecidos como eferentes, transportam o impulso no sentido contrário aos sensoriais. Desta forma, este tipo de neurónios são responsáveis pela transmissão do IN desde o SNC até aos órgãos efectores, estes podem ser músculos ou glândulas. Em resposta ao estímulo recebido, os músculos podem contrair ou relaxar e as glândulas segregam. Os neurónios motores ligados aos músculos esqueléticos são os somáticos, enquanto que os que se encontram ligados ao músculo liso, cardíaco e às glândulas são referidos como viscerais. Os neurónios aferentes e eferentes constituem o sistema nervoso periférico.

Os interneurónios são encontrados exclusivamente no SNC e estão organizados de forma a transmitirem apenas impulsos motores ou sensoriais. Alguns podem combinar estas duas funções. Alguns tipos destes neurónios estão relacionados com acções como pensar, aprender e também com a memória.

Os neurónios transmitem impulsos apenas numa direcção, isto resulta da sua estrutura e localização, assim como da sua disposição em relação a outros neurónios e as sinapses daí

resultantes. Como consequência, o SNC é uma enorme rede de um sentido apenas, não havendo perigo de impulsos contraditórios a cancelarem-se mutuamente. (Davis, 2007)

O sistema nervoso dos animais é um dos alvos de actuação dos pesticidas para controlo de pragas. No entanto, muitos dos pesticidas não são específicos para o sistema nervoso das pragas que é suposto controlarem, tendo efeitos também a nível do SNC dos Humanos. No capítulo seguinte são esclarecidos alguns pontos de interesse em relação a estes compostos.

Pesticidas

O uso de pesticidas e a agricultura surgiram quase em simultâneo. Já nos anos antes de Cristo, diversos povos tinham descoberto a capacidade do sal para matar ervas daninhas e do pó de enxofre para controlar as pragas de insectos.

Mas afinal o que é um pesticida? Segundo a Directiva 2009/128/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 21 de Outubro de 2009, que estabelece um quadro de acção a nível comunitário para uma utilização sustentável dos pesticidas, pesticida é:

- a) Um produto fitofarmacêutico na acepção do Regulamento (CE) n. o 1107/2009, artigo 2º
- b) Um produto biocida tal como definido na Directiva 98/8/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Fevereiro de 1998, relativa à colocação no mercado de produtos biocidas

- **Produtos Biocidas:** Substâncias activas e preparações que contenham uma ou mais substâncias activas, apresentadas sob a forma em que são fornecidas ao utilizador, e que se destinem a destruir, travar o crescimento, tornar inofensivo, evitar ou controlar de qualquer outra forma a acção de um organismo prejudicial por mecanismos químicos ou biológicos

Classificação dos Pesticidas

Existem inúmeros tipos de pesticidas e a sua classificação pode ser efectuada de diversas formas. Podem ser agrupados consoante a sua finalidade (acaricida, herbicida, fungicida, antimicrobiano, avicida, insecticida, rodenticida, moluscicida e piscicida), quanto ao seu mecanismo de acção: através de ingestão (a praga deve ingerir a planta com o produto), microbiano (o produto contém microorganismos que atacarão a praga ou o agente causador da doença), por contacto (ao tocar o corpo da praga o produto já faz efeito) e por fim quanto à sua origem: orgânicos e inorgânicos. Os orgânicos podem ser de síntese ou de origem vegetal.

Os pesticidas inorgânicos apesar de já terem sido largamente utilizados no passado, neste momento representam uma percentagem muito pequena dos pesticidas usados devido aos seus efeitos deletérios para a saúde humana. Neste grupo podemos encontrar produtos à base de arsénio, fósforo, cádmio, ferro, chumbo, entre outros.

Os pesticidas orgânicos incluem os de origem vegetal, onde se encontram a nicotina e a piretina, e os de síntese. Dentro deste grupo os pesticidas podem ser divididos em

organoclorados e anticolinesterase. Dentro dos pesticidas anticolinesterase encontramos dois compostos quimicamente diferentes mas que possuem o mesmo mecanismo de acção. São eles os ésteres do ácido fosfórico ou fosforotióico e os do ácido carbâmico.

Os compostos organoclorados, pelas suas propriedades, são pesticidas eficazes, apesar de apresentarem alguns aspectos negativos. A sua baixa volatilidade, solubilidade nos lípidos, lento metabolismo e estabilidade química levam à sua bioacumulação e persistência no meio ambiente. Estes produtos são extensivamente usados nos países em desenvolvimento, uma vez que são muito eficazes e de fabrico barato. Existem poucos substitutos destes compostos e a relação risco/benefício, nos países em desenvolvimento, pesa a favor do seu uso.

Os pesticidas anticolinesterase inibem a enzima hidrolítica acetilcolinesterase. Os pesticidas mais comuns deste grupo são os ésteres do ácido fosfórico ou fosforotióico. Também chamados de organofosfatos, este é um grupo quimicamente diverso. Neste grupo podemos encontrar alguns gases de guerra desenvolvidos durante a II Guerra Mundial, tais como o VX e o Sarin. Outra classe dentro dos pesticidas anticolinesterase são os carbamatos. Estes são ésteres de ácido carbâmico que actuam de forma similar aos organofosfatos.

O grau de toxicidade também é um critério de classificação dos pesticidas. São divididos em quatro grandes classes:

- **Classe Toxicológica I:** produto no qual se encontram substâncias ou compostos químicos considerados “altamente tóxicos” para o ser humano.
- **Classe Toxicológica II:** produto considerado medianamente tóxico para o ser humano.
- **Classe Toxicológica III:** produto considerado pouco tóxico ao ser humano.
- **Classe Toxicológica IV:** produto considerado “não-tóxico” ao ser humano.

Cada uma destas classes tem uma cor atribuída por lei, sendo estas constantes dos rótulos da embalagem de cada pesticida.

Pesticidas Anticolinesterase

Apesar de as estruturas deste grupo de compostos ser bastante diversa, o mecanismo pelo qual actuam e desencadeiam a sua toxicidade é idêntico e baseia-se na inibição da acetilcolinesterase. A acetilcolinesterase é uma enzima que destrói a acetilcolina, um neurotransmissor do SN. Com a sua inibição, há um aumento da acetilcolina livre, havendo uma estimulação da actividade eléctrica.

Propriedades físico-químicas

Organofosforados: são compostos químicos de síntese, ésteres do ácido fosfórico ou fosforotióico. São compostos altamente lipossolúveis (alto coeficiente de partição óleo/água) que detêm propriedades apolares e se decompõem em meio alcalino.

Carbamatos: também são compostos químicos de síntese, ésteres de ácido carbâmico. Possuem baixa pressão de vapor e são pouco solúveis em água. Por outro lado são altamente solúveis em metanol e acetona e moderadamente em benzeno e tolueno.

Local e mecanismo de toxicidade

Apesar da sua acção comum, há algumas diferenças entre os ésteres organofosforados e os de carbamato.

O local activo da acetilcolinesterase é um grupo serina hidroxilo. Da sua reacção com o éster organofosforado resulta um complexo transitório intermediário que se hidrolisa parcialmente com a perda do grupo substituinte Z (ver imagem I). Desta reacção resulta uma enzima estável, não reactiva e fosforilada que só pode ser reactivada de forma muito lenta.

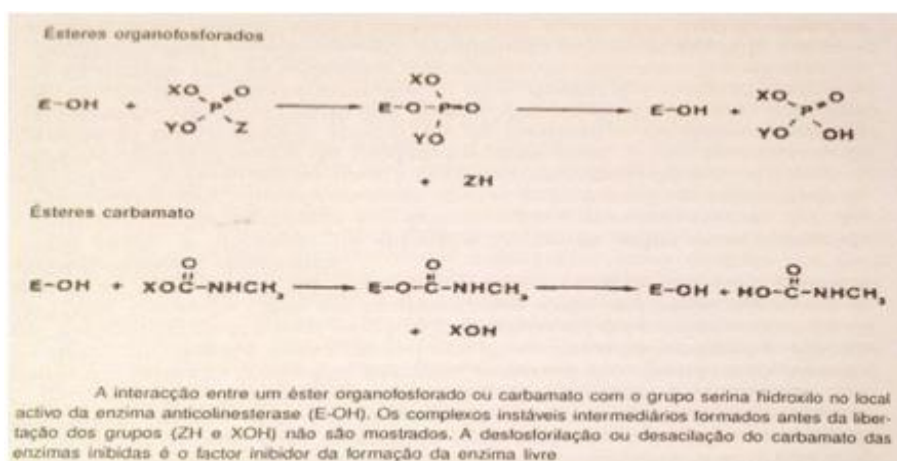


Imagem I (Klaassen and Watkins, 2001)

Por outro lado, os ésteres de ácido carbâmico sofrem hidrólise em duas fases. Na primeira parte há a remoção do grupo X (arilo ou alquilo), resultando uma enzima acilada. Já na segunda fase ocorre a desacilação da enzima inibida, sendo a actividade desta restaurada (ver imagem I).

A diferença entre estas duas classes de compostos reside no tempo em que a enzima demora a tornar-se activa. O ritmo de desacilação é muito lento para os organofosforados, de modo que a enzima se considera irreversivelmente inibida. Nos carbamatos, o ritmo de desacilação é suficientemente rápido para que sejam considerados inibidores reversíveis.

Exposição, Absorção, Distribuição e Excreção

O envenenamento por pesticidas pode resultar de vários tipos de exposição: intencional (suicídio), ocupacional (agricultores) e acidental (gases de guerra, fugas de

pesticidas armazenados). A exposição pode ser aguda ou crónica, variando os seus efeitos no organismo em função disso.

A absorção destes pesticidas depende da concentração do composto, tempo de exposição, solubilidade, área de exposição, características físico-químicas do agente e do epitélio e também da microcirculação sub-epitelial, como dito anteriormente.

Sendo os organofosforados altamente lipossolúveis, a sua taxa de absorção irá ser bastante elevada, no entanto, devido a esta característica, a sua excreção também será dificultada. Estes compostos, devido à sua lipossolubilidade, são distribuídos e concentrados no tecido adiposo. Pode ser armazenado neste tecido uma grande quantidade de tóxicos com um elevado coeficiente de partilha óleo/água. Esta acumulação reduz a exposição primária do órgão alvo ao tóxico, tirando-se daí a conclusão que para um indivíduo com menor percentagem de massa gorda a toxicidade do composto é maior. No entanto, um emagrecimento súbito pode levar a um aumento exacerbado da concentração do tóxico no sangue, podendo ocorrer uma reacção tóxica grave.

Passagem dos pesticidas por barreiras especializadas

- **Barreira hemato-encefálica** – não se trata de uma barreira absoluta, é apenas menos permeável do que as presentes noutros tecidos. As principais barreiras para as moléculas hidrossolúveis são não só as junções mais estreitas do endotélio mas também as membranas lipídicas dos processos das células gliais. Já os compostos lipossolúveis passam estas barreiras com relativa facilidade. O que dificulta a passagem deste tipo de compostos é o reduzido conteúdo proteico do fluido intersticial no cérebro que limita o movimento dos compostos insolúveis na água. Este fenómeno proporciona alguma protecção contra a distribuição dos tóxicos no SNC. No geral, a entrada de agentes tóxicos no cérebro segue os mesmos princípios aplicáveis à transferência de compostos doutras zonas do organismo. Esta barreira não está totalmente desenvolvida aquando do nascimento, sendo uma das razões de alguns tóxicos serem mais nocivos para os recém-nascidos em relação aos adultos.

- **Placenta** – durante alguns anos acreditou-se que a placenta seria uma barreira de protecção do feto, impedindo a passagem de substâncias tóxicas da mãe para este. No entanto, enquanto a maioria dos nutrientes precisa de transporte específico para atravessar esta barreira, os tóxicos conseguem fazê-lo apenas por difusão. Os factores já descritos que influenciam a passagem de moléculas através dos tecidos são os mesmos que influenciam a passagem pela placenta. Sabe-se no entanto que a placenta tem capacidade de biotransformar algumas substâncias com o objectivo de as tornar menos nocivas para o feto. A concentração

do composto tóxico no feto depende da sua capacidade para se incorporar nos tecidos do mesmo.

Sinais e Sintomas do envenenamento por pesticidas anticolinesterase

Os sinais clássicos de intoxicação por pesticidas tornaram-se mais difíceis de reconhecer ao longo dos anos. O reconhecimento de novos e persistentes sinais da toxicidade destes compostos, tornou esta identificação mais complexa.

Na sua maior parte, os casos agudos de envenenamento tratam-se de tentativas de suicídio. Os sinais de envenenamento agudo variam conforme a exposição ao tóxico e os seus efeitos surgem da sua actividade anticolinesterase nos receptores nicotínicos e muscarínicos do sistema nervoso.

Os efeitos muscarínicos são na sua maioria parassimpaticomiméticos, manifestando-se em vários órgãos do corpo humano. Podemos referir aperto no peito, dificuldade em respirar, dispneia, edema pulmonar, cianose e visão desfocada. Por seu lado, os efeitos nicotínicos manifestam-se nos nervos motores somáticos e no sistema nervoso simpático. Podemos referir contracções e fasciculações musculares, fraqueza, cólicas e palidez.

Existe uma mnemónica usada para o diagnóstico da intoxicação aguda por anticolinesterases, sendo em inglês “**DUMBELS**”: **D**iarrhea (diarreia), **U**rination (micção), **M**iosis (miose), **B**ronchospasm (broncoespasmo), **E**mesis (emese), **L**acrimation (lacrimejar), **S**alivation (salivar).

Apesar de a maioria das manifestações clínicas de envenenamento agudo se resolverem num período de tempo relativamente curto, a exposição aguda a estes agentes pode provocar sequelas crónicas neurológicas graves.

Por seu lado, a exposição crónica a estes tóxicos pode resultar em dois síndromes distintos: Organophosphate-induced delayed neurophaty (OPDIN) (neurotoxicidade tardia induzida por organofosforados), e outro cujos sintomas se situam entre o OPDIN e os efeitos agudos, a síndrome intermediária.

A síndrome intermediária surge entre a crise aguda colinérgica e o aparecimento das polineuropatias tardias associadas com o OPDIN. Os principais efeitos do síndrome intermediário são a fraqueza muscular, sendo que esta afecta maioritariamente os nervos cranianos. Estes nervos são responsáveis, entre outros, pelos músculos acessórios da respiração, podendo assim provocar uma paragem respiratória devido à parestesia. No entanto, o OPDIN não está relacionado com a inibição da acetilcolinesterase, mas sim com a inibição da *Neuropathy Target Esterase* (NTE). A interacção tanto dos carbamatos como dos organofosfatos com a NTE é que provoca o OPDIN.

Muitos dos efeitos neuropsicológicos devidos à baixa exposição crónica aos pesticidas organofosforados, parecem estar relacionados com os processos cognitivos de aprendizagem e memória. Algumas pessoas expostas a este tóxico podem ter falhas de memória apesar de não existirem sinais evidentes de toxicidade ou uma inibição significativa da colinesterase.

Diagnóstico e Tratamento

O diagnóstico do envenenamento agudo através de pesticidas anticolinesterase baseia-se na presença do composto ou seus metabolitos, medição da inibição da acetilcolinesterase e sinais colinérgicos de intoxicação.

O tratamento destes casos inclui normalmente dois compostos: atropina e oximas. Os anticonvulsivantes e calmantes também podem ser utilizados.

A atropina compete com a acetilcolina nos receptores muscarínicos, resultando assim um efeito antagonista. Para além desta acção, a atropina também se revelou eficaz no tratamento da distonia durante a fase aguda da intoxicação. Apesar de a eficácia deste composto ter sido comprovada em estudos animais e a sua eficácia clínica ser inquestionável, não se encontram publicados estudos de controlo.

A acção das oximas passa pela reactivação da acetilcolinesterase inibida pelos organofosfatos. Os efeitos benéficos das oximas são confinados aos receptores nicotínicos periféricos e os efeitos no SNC são clinicamente insignificantes. Assim, o principal benefício vai para a transmissão neuromuscular, com poucos efeitos nos sinais e sintomas parassimpáticos e sem efeitos no SNC comprovados.

O diazepam pode ser usado como relaxante em casos moderados de toxicidade. Em casos mais severos pode ser usado um anticonvulsivante para controlar as fasciculações dos músculos.

O diagnóstico de envenenamento crónico torna-se mais difícil de realizar uma vez que não há relação entre a inibição da acetilcolinesterase e a toxicidade crónica. A inibição da acetilcolinesterase está presente na síndrome intermediária mas não se observa no OPDIN.

A influência dos pesticidas organofosforados no desenvolvimento cognitivo das crianças

Recentemente, têm surgido evidências de que a baixa exposição crónica a organofosforados conduz a efeitos adversos na saúde. Esta baixa exposição é estudada em grupos expostos de forma ocupacional ou ambiental que não manifestam sinais de envenenamento agudo.

O uso indiscriminado dos pesticidas é um fenómeno dos países em desenvolvimento, onde os níveis no ambiente têm tendência a ser mais altos e onde o seu uso não é regulamentado, ao contrário do que acontece com os países desenvolvidos.

As consequências de tal exposição manifestam-se em diferentes fases, algumas tendo um período de latência longo. Como exemplo podemos referir a exposição pré-natal que tanto pode provocar deficiências detectáveis ao nascimento como se pode apenas manifestar mais tarde na infância ou até na idade adulta (Peiris-John and Wickremasinghe, 2008).

Durante os últimos anos, diversas pesquisas apontaram para uma relação entre a exposição a pesticidas e alterações no desenvolvimento cognitivo das crianças:

“Neurodevelopmental disabilities, including autism, attention-deficit hyperactivity disorder, dyslexia, and other cognitive impairments, affect millions of children worldwide, and some diagnoses seem to be increasing in frequency. Industrial chemicals that injure the developing brain are among the known causes for this rise in prevalence.” (Grandjean and Landrigan, 2014)

Antes de mais é necessário definir o que é o desenvolvimento cognitivo. No entanto, para esclarecer este tópico é necessário definir o que é a cognição. Apesar de esta definição não ser ainda totalmente clara, de uma forma breve podemos dizer que a cognição é um “conjunto de habilidades cerebrais/mentais necessárias para a obtenção de conhecimento sobre o mundo. Tais habilidades envolvem pensamento, raciocínio, abstracção, linguagem, memória, atenção, criatividade, capacidade de resolução de problemas, entre outras funções.” (Cabral and Freire, 2013).

Assim, o conceito de cognição remete a conceitos desenvolvidos desde a infância até à terceira idade. É de frisar que a aprendizagem e o desenvolvimento andam de mãos dadas, não ocorrendo um sem o outro.

Desta forma, podemos entender o desenvolvimento cognitivo como “Um processo pelo qual os indivíduos adquirem conhecimento sobre o mundo ao longo da vida”. (Cabral and Freire, 2013).

As alterações no desenvolvimento neuro-comportamental afectam entre 10 a 15% de todos os nascimentos. A prevalência do autismo e do défice de atenção e hiperactividade (ADHD) estão também a aumentar mundialmente. Ainda mais comum que estes distúrbios, encontramos decréscimos subclínicos da função cerebral. Todas estas disfunções cognitivas podem ter consequências severas: diminuem a qualidade de vida, reduzem o sucesso académico e perturbam o comportamento, com profundas consequências para o bem-estar e produtividade da sociedade.

As principais causas para esta pandemia silenciosa são apenas em parte compreendidas. Apesar de os factores genéticos terem o seu papel, não representam mais de 40% dos casos descritos. Outra das causas prende-se com a exposição ambiental a factores que interagem com predisposições genéticas para estas disfunções cognitivas. Existem fortes indícios que os

químicos industriais são importantes contribuidores desta pandemia. (Grandjean and Landrigan, 2014).

Estudos recentes revelam que a exposição aos pesticidas se encontra distribuída em algumas populações susceptíveis, incluindo mulheres grávidas e crianças. As crianças são mais susceptíveis a estes agentes devido às suas características fisiológicas: bebem mais água, comem mais, respiram com maior frequência do que os adultos, brincam no chão (onde os pesticidas podem ter sido colocados) e têm uma maior ingestão através de contaminação cruzada, aumentando assim a sua exposição. Para além destes factores, as crianças também podem ser mais susceptíveis aos efeitos neurotóxicos dos pesticidas, não só porque estão em rápido desenvolvimento (especialmente cérebro e SNC), mas também porque têm níveis mais baixos das enzimas responsáveis pela desactivação dos organofosforados do que os adultos. Todos estes aspectos indicam-nos que as crianças são muito mais vulneráveis à exposição dos pesticidas organofosforados.

Existem inúmeros estudos em animais que demonstraram que a exposição precoce e in-útero a organofosforados afecta o desenvolvimento neurológico (Eskenazi, Bradman and Castorina, 1999). No entanto, muito poucos avaliaram estes efeitos em crianças após exposições a níveis baixos de organofosforados, tendo para além disso apresentado resultados inconsistentes. (Guodong *et al.*, 2012).

Nos estudos realizados em animais, encontramos evidências científicas de que uma única dose elevada de clorpirifos (um pesticida organofosforado, daqui em diante designado CPF) durante a gestação, afecta de forma mais extensa a progenitora do que o feto a nível neurológico. Por outro lado, a exposição repetida a doses baixas desta substância durante a gestação, provoca alterações neuro-comportamentais nos ratos em desenvolvimento, não se observando toxicidade materna. Para além disto, a administração de CPF nas últimas semanas de gestação conduz a alterações a longo termo da “performance” cognitiva. Há uma grande janela de vulnerabilidade do sistema colinérgico ao CPF, que podemos localizar desde o início da gestação até ao recém-nascido. Em suma, os estudos realizados que avaliam a exposição ao CPF em ratos, sugerem-nos que esta substância é um potencial tóxico que afecta o comportamento. (Garry, 2004).

Estudos recentes em humanos mostram que indivíduos com baixa actividade da PON-1 (Paraoxonase-I), enzima responsável pelo metabolismo dos organofosforados, são mais susceptíveis ao envenenamento por pesticidas. Sabe-se também que os recém-nascidos têm uma actividade mais baixa desta enzima comparativamente aos adultos, contribuindo assim para a sua susceptibilidade a estes compostos. Outro factor a ter em conta é que esta enzima

apresenta diversos polimorfismos, contribuindo para a variabilidade dos níveis desta enzima na população. (Peiris-John and Wickremasinghe, 2008).

De acordo com Engel *et al.*, (2011), num estudo realizado para observar a interacção entre a exposição de organofosforados e o desenvolvimento cognitivo, a PON-1 tem um importante papel como factor de susceptibilidade. Neste estudo multi-étnico foi utilizada uma população pré-natal e recolhidas amostras de urina materna no terceiro trimestre de gravidez. Estas amostras foram analisadas para detectar a presença de metabolitos dos organofosforados dietilfosfatos (DEP), dimetilfosfatos (DMP) e dialquilfosfatos (DAP), enquanto que o sangue das mães foi analisado para avaliar a actividade da PON-1 e o seu genótipo. As respectivas crianças voltaram para uma avaliação de desenvolvimento neuronal aos 12 e 24 meses e entre os 6 e os 9 anos de idade.

O desenvolvimento aos 12 e 24 meses de idade foi avaliado segundo a Bayley Scales of Infant Development, 2nd edition (BSID-II). Esta escala fornece modelos padronizados por idade do desenvolvimento mental e psicomotor. A idade mental é avaliada segundo o índice de desenvolvimento mental (MDI) que classifica a capacidade cognitiva da criança em variadas áreas. Já o desenvolvimento psicomotor é avaliado através do índice de desenvolvimento psicomotor (PDI) que classifica a coordenação motora fina e grossa da criança. Após esta entrevista as crianças foram convidadas a voltar entre os 6 e os 9 anos de idade. Aquelas que voltaram antes dos 7 anos foram avaliadas segundo a Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, 3rd edition (WPPSI-III), enquanto as crianças com idades compreendidas entre os 7 e os 9 anos foram avaliadas segundo a Wechsler Intelligence Scale for Children, 4th edition (WISC-IV).

Neste estudo, e noutros sobre o autismo, é frequente ouvirmos falar dos polimorfos da PON-1. Para caracterizar estes polimorfos foram avaliados 3 *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) (C_108T, L55M, and Q192R), localizados no promotor da sequência de codificação da PON-1. A paraoxonase é uma enzima responsável pela inactivação dos organofosforados em humanos, para além de proteger as lipoproteínas de baixa e alta densidade (LDL e HDL, respectivamente). Os 3 SNPs avaliados são os polimorfos funcionais mais conhecidos e caracterizados que afectam não só a quantidade da enzima no soro como a sua afinidade para o substrato específico. Estes polimorfismos conduzem a impressionantes diferenças na actividade da paraoxonase nos diferentes indivíduos.

Os resultados deste estudo sugerem que os níveis totais dos DAPs medidos na fase pré-natal estão associados com uma diminuição do desenvolvimento mental das crianças de 12 meses, entre negros e hispânicos. Esta associação parece ser reforçada quando o genótipo QR/RR PON-1 Q192R está presente nas crianças. O aumento do DAP e DMP foram

associados com decréscimos no raciocínio perceptual em crianças no final da infância com mães que possuem o genótipo PON-1 Q192R QQ, o qual confere uma actividade catalítica lenta para o clorpirifos. As descobertas deste estudo sugerem que a exposição a organofosforados está associada de forma negativa com o desenvolvimento cognitivo, em particular o raciocínio perceptual. Há indícios de que os efeitos começam aos 12 meses e continuam durante a infância. O estudo sugere também que os polimorfismos da PON-1 são um importante factor de susceptibilidade para estes efeitos nefastos. (Engel *et al.*, 2011).

Noutro estudo foi colocada a hipótese de que a exposição a organofosforados, durante um período crítico do desenvolvimento uterino, poderia precipitar o aparecimento de casos de autismo numa população geneticamente vulnerável. Num estudo de caso-controlo, foi relatada uma associação significativa entre os casos de autismo e os polimorfos da PON-1 entre caucasianos-americanos. (Peiris-John and Wickremasinghe, 2008).

Segundo Amelio *et al.*, (2005), os factores genéticos e ambientais, actuando sozinhos ou em combinação, podem contribuir para a patogénese do autismo através da sua interferência com o processo de desenvolvimento neuronal. Os autores deste estudo concluem, com base nos dados bioquímicos e genéticos obtidos, que os seus resultados são compatíveis com um modelo interactivo da patogénese do autismo. Neste modelo defendem que a vulnerabilidade genética é conferida em parte pelos “alelos longos” de uma repetição polimórfica GGC, localizada na região não traduzida do gene RELN¹, produzindo pequenas quantidades da proteína Reelin² e também pelos alelos R192 da PON-1 que possivelmente reduzem a actividade da paraoxonase em compostos organofosforados. Existe também uma componente ambiental neste modelo que consiste na exposição subaguda a organofosforados durante períodos de desenvolvimento pré-natal críticos.

A co-ocorrência de responsabilidade genética e de exposição ambiental, resultariam então na diminuição da actividade proteolítica da Reelin, alteração da migração neuronal, na ligação incorrecta dos circuitos neuronais subjacentes à cognição social e desta forma os sintomas de autismo apareceriam quando a criança atingisse um estágio de desenvolvimento em que precisaria desses circuitos.

As evidências fornecidas por este estudo, e por outros anteriores, embora convergentes e sugestivas, são apenas correlativas e indirectas, não podendo de forma alguma ser consideradas conclusivas de que os organofosforados aceleram o aparecimento de autismo.

¹ Gene que codifica a proteína Reelin

² Proteína que exerce actividade proteolítica nas proteínas da matriz extracelular, sendo um processo crítico para a migração neuronal

Em dois estudos publicados em 2011, foi relacionada a exposição a organofosforados com o desenvolvimento neuronal e cognitivo, medidos através da Full-Scale Intelligence Quotient (FSIQ) e outros *outcomes*.

Bouchard *et al.*, (2011) realizaram um estudo em que o objectivo era avaliar a associação entre exposições pré e pós natais a pesticidas organofosforados e sua influência nas capacidades cognitivas de crianças em idade escolar. Para isso, realizou um estudo coorte com famílias Latinas de uma comunidade rural na Califórnia. A exposição aos organofosforados foi avaliada através da medição dos metabolitos de DAP na urina das mulheres grávidas (no primeiro e segundo semestre de gravidez) que entraram no estudo, e em crianças aos 6 meses, 1, 2, 3.5 e 5 anos de idade. Foi usada neste estudo a WISC-IV, anteriormente referida, para a avaliação das crianças aos 7 anos de idade. Para retirar as variáveis de confusão, os resultados foram ajustados tendo em conta a educação e inteligência materna, uma avaliação cognitiva e linguística e um inventário que avaliava o meio ambiente doméstico (Home Observation for Measurement of the Environment).

As concentrações urinárias de DAP nos dois semestres de gravidez tinham uma relação bastante similar com os resultados cognitivos, tendo sido usada a média dessas duas concentrações nas análises posteriores. Estas médias estavam associadas com níveis inferiores de memória de trabalho (mais conhecida como memória a curto prazo), velocidade de processamento, compreensão verbal, raciocínio perceptual e do quociente de inteligência (FSIQ). As crianças expostas a concentrações maternas de DAP no quintil mais elevado tinham uma média de 7.0 pontos a menos na FSIQ do que as crianças no quintil mais baixo. No entanto, as concentrações urinárias das crianças não foram associadas de forma consistente com os resultados cognitivos.

Este estudo conclui assim que apenas as concentrações pré-natais de DAP podem ser relacionadas com um desenvolvimento intelectual menor em crianças de 7 anos de idade. É de notar que as concentrações de DAP medidas na urina das mães estão na média dos níveis medidos na população dos EUA.

Um estudo semelhante realizado por Rauh *et al.*, (2011), avalia os efeitos da exposição ao clorpirifos (um pesticida organofosforado) na FSIQ e na memória de trabalho. Neste estudo encontramos evidências de que esta exposição provoca igualmente efeitos negativos na FSIQ e na memória de trabalho, tal como evidenciado no artigo anterior. Em média, para cada aumento do desvio padrão na exposição de CPF (4.61 pg/g), a FSIQ diminuiu 1,4% e a memória de trabalho 2,8%. Concluindo, foram encontradas evidências de défices na memória de trabalho e na FSIQ aos 7 anos de idade como resultado da exposição pré-natal ao CPF. Estes

resultados são importantes, tendo em conta o uso generalizado de CPF em ambientes agrícolas e possíveis implicações educacionais de longo prazo devido a déficits cognitivos na infância.

O défice de atenção e hiperactividade ADHD (Attention Deficit and Hyperactivity Disorder) foi outro défice cognitivo em que foi estudada a sua relação com a exposição a organofosforados.

Um estudo realizado em 2010, investigou se a exposição a organofosforados, medida através dos metabolitos de DAP presentes na urina de mulheres grávidas e suas crianças estava associada a problemas de atenção em crianças Mexicanas-Americanas que viviam numa zona rural da Califórnia. As crianças foram avaliadas nas idades de 3,5 e 5 anos de idade enquanto que as mães completaram um inquérito comportamental das crianças (Child Behavior Checklist (CBCL)). Foi aplicado um subteste de atenção visual (NEPSY-II) para as crianças de 3,5 anos e o teste Conners' Kiddie Continuous Performance (K-CPT) às crianças de 5 anos. A escala de Hillside foi usada para avaliar o comportamento das crianças de 5 anos durante os testes.

Durante o estudo foi registado que a concentração pré-natal de metabolitos do DAP (medida na urina materna) não foi associada de forma significativa com problemas de ADHD em crianças de 3,5 anos, no entanto foram associadas significativamente na idade de 5 anos. Alguns resultados mostraram uma mudança do efeito de acordo com o sexo. A associação entre a concentração de DAPs na criança e a atenção não foi significativa.

Concluindo, as concentrações de DAP pré-natais foram associadas de forma negativa com a atenção, de acordo com a avaliação das mães através do CBCL, observação dos psicometristas, aquando das realizações dos testes, e avaliação directa. Para além disto, observou-se que as associações eram mais robustas em rapazes e na idade de 5 anos. (Marks *et al.*, 2010).

Noutro estudo, também de 2010, realizado por Bouchard *et al.*, (2010), foi examinada a associação entre a concentração urinária de metabolitos de DAPs e a ADHD em crianças entre os 8 e 15 anos de idade, num universo de 1139. Uma entrevista com um dos pais foi usada para verificar o status do diagnóstico de ADHD, sendo que 119 crianças tinham os critérios necessários para o diagnóstico desta doença. Crianças com concentrações urinárias altas de metabolitos DAP, especialmente DMAP, eram mais propensas a serem diagnosticadas com ADHD. Um aumento de 10 vezes na concentração de DMAP foi associado com uma *odds ratio*³ de 1,55, com ajustamento de sexo, idade, raça/etnia, pobreza/renda, duração de jejum e

³ *Odds ratio*: razão entre a probabilidade de dois *outcomes*, isto é, é a razão entre a probabilidade de se tornar doente e a probabilidade de não se tornar doente.

concentrações urinárias de creatinina. Crianças com níveis mais altos do que a média das concentrações detectáveis de dimetiltiofosfato, o metabolito do DMAP mais comumente detectado, têm o dobro da probabilidade de desenvolver ADHD, comparando com crianças com níveis indetectáveis da mesma substância.

Apesar de serem necessários mais estudos para estabelecer se esta associação é causal, os resultados obtidos sugerem que a exposição a organofosforados, a níveis normais entre as crianças norte americanas, podem contribuir para a prevalência de déficit de atenção e hiperactividade (ADHD).

Conclusão

Os pesticidas organofosforados encontram-se mundialmente espalhados e o seu uso é bastante intenso. Os resultados dos estudos apresentados são preocupantes e, como tal, devem ser tomadas medidas preventivas no que diz respeito à exposição por grupos mais vulneráveis.

Um dos principais problemas, quando se comparam os diversos estudos realizados sobre o tema, é o de que possuem desenhos experimentais muito distintos, em que são usados diferentes métodos de avaliação da exposição ao agente tóxico, e que se traduzem em diferentes *outcomes*. Nos estudos em que se avalia a exposição a baixos níveis dos organofosforados torna-se difícil a observação dos *outcomes*, uma vez que o nível da exposição não produz efeitos observáveis nas crianças. Outra dificuldade, prende-se também com a especificidade da exposição. Estaremos a avaliar a exposição apenas do pesticida pretendido ou de uma variedade de pesticidas usados em conjunto? Na maioria dos estudos apresentados, a exposição aos pesticidas organofosforados foi avaliada com base na análise de um metabolito característico destes compostos. É necessário padronizar os estudos e a forma como são conduzidos, para que os resultados sejam fiáveis e robustos.

Deve ter-se em conta que estes estudos avaliam uma exposição a níveis considerados seguros na actualidade, no entanto, tal como se concluiu pelos dados obtidos, esses níveis têm consequências bastante nefastas à cognição das crianças, a longo prazo.

Por conseguinte, devem ser realizados mais estudos para determinar quais os níveis de pesticidas que são seguros para a saúde das crianças e fetos em desenvolvimento. Em função desses estudos, o uso de pesticidas deverá ser devidamente regulamentado e, principalmente, fiscalizado.

Idealmente, o controlo das pragas deveria ser feito sem a necessidade de recurso a substâncias químicas. Contudo, apenas desta forma, seria impossível conseguir uma produção alimentar suficiente para satisfazer as necessidades da vastíssima população mundial. Nesta conjuntura, o uso de pesticidas torna imperativo a necessidade de se encontrar um equilíbrio entre os níveis não nefastos para o ser Humano e aqueles que fazem realmente efeito nas pragas. Caso este equilíbrio não seja alcançável, deve apostar-se na protecção dos grupos mais vulneráveis, impedindo a sua exposição a estes agentes.

Bibliografia

- Amelio MD, Ricci I, Sacco R, Liu X, D'agruma L, Muscarella LA, Guarnieri V, Militerni R, Bravaccio C, Elia M, Schneider C, Melmed R, Trillo S, Pascucci T, Puglisi-Allegra S, Reichelt K-L, Macciardi F, Holden JJA, Persico AM (2005) Paraoxonase gene variants are associated with autism in North America, but not in Italy: possible regional specificity in gene–environment interactions. *Molecular Psychiatry*, 10, pp. 1006-1016
- Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, Weisskopf MG (2010) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Urinary Metabolites of Organophosphate Pesticides. *Pediatrics*, 125, pp. e1270-e1277
- Bouchard MF, Chevrier J, Harley KG, Kogut K, Vedar M, Calderon N, Trujillo C, Johnson C, Bradman A, Barr DB, Eskenazi B (2011) Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticides and IQ in 7-Year-Old Children. *Environmental Health Perspectives*, 119 (8), pp. 1189-1195
- Engel SM, Wetmur J, Chen J, Zhu C, Barr DB, Canfield RL, Wolff MS (2011) Prenatal Exposure to Organophosphates, Paraoxonase I, and Cognitive Development in Childhood. *Environmental Health Perspectives*, 119(8), pp. 1182-1188
- Garry VF (2003) Pesticides and children. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, pp. 152–163
- Eskenazi B, Bradman A, Castorina R (1999) Exposures of Children to Organophosphate Pesticides and Their Potential Adverse Health Effects. *Environmental Health Perspectives*, 107(3), pp. 409-419
- Grandjean P, Landrigan PJ (2014) Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurology*, 13, pp. 330–338
- Guodong D, Pei W, Ying T, Jun Z, Yu G, Xiaojin W, Rong S, Guoquan W, Xiaoming S (2012) Organophosphate Pesticide Exposure and Neurodevelopment in Young Shanghai Children. *Environ. Sci. Technol*, 46, pp. 2911–2917
- Marks AR, Harley K, Bradman A, Kogut K, Barr DB, Johnson C, Calderon N, Eskenazi B (2010) Organophosphate Pesticide Exposure and Attention in Young Mexican-American Children: The CHAMACOS Study. *Environmental Health Perspectives*, 118 (12), pp. 1768-1774
- Peiris-John RJ, Wickremasinghe R (2008) Impact of low-level exposure to organophosphates on human reproduction and survival. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102, pp. 239-245
- Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB, Whyatt R (2011) Seven-Year Neurodevelopmental Scores and Prenatal Exposure to Chlorpyrifos, a Common Agricultural Pesticide. *Environmental Health Perspectives*, 119(8), pp. 1196-1201
- Klaassen, C., Watkins J. (2001) *Toxicologia A Ciência Básica dos Tóxicos*. 5ª Edição. Lisboa : McGraw-Hill Portugal, 2001.
- Scanlon VC, Sanders T (2007) The Nervous System. In: Scanlon VC, Sanders T *Essentials of Anatomy and Physiology*. Philadelphia, F. A, Davis Company, pp. 163-19
- Cabral, D.C., Freire, P. - TRABALHO INDIVIDUAL FINAL DE PROCESSO EDUCATIVO I . ° SEMESTRE - ANO LETIVO 2012 / 2013 Elaboração do Dossiê de Atividades — DAPE Processo Educativo : desenvolvimento e aprendizagem Docente : Feliciano H . Veiga Página. 2013