

NEUROPATIA EXPERIMENTAL POR DDT

ANALISE DE NERVO POR MICRODISSECÇÃO DE FIBRAS

EDISON MATOS NÓVAK *

LINEU CESAR WERNECK *

Apesar de ter sua ação inseticida verificada na década de 1940 com subsequente difusão em todo o mundo, o diclorodifeniltricloroetano (DDT) permanece com seu mecanismo de ação tóxica insuficientemente conhecido^{12, 23}. Há vários relatos de intoxicações agudas por este agente^{13, 15, 17, 18, 21, 25}, mas as manifestações crônicas, embora mais possíveis devido à sua estabilidade química e afinidade por tecido adiposo²⁶, são menos citadas^{12, 17}.

Em vista desses fatos, propusemos-nos estudar a ação do DDT sobre nervo periférico do rato albino para verificar o efeito de administração prolongada de doses subtóxicas desta substância e, se possível, contribuir para o esclarecimento do mecanismo da ação tóxica.

MATERIAL E MÉTODOS

Dez *Rattus norvegicus* da cepa Wistar, fêmeos, com 80 a 90 dias de idade, foram submetidos a intoxicação crônica por DDT. A dose deste produto foi de 5mg/kg de peso, misturada à ração alimentar e administrada diariamente por 180 dias. Fimdo este período, foram ressecados os nervos gênito-femorais de todos os ratos e microdissecadas suas fibras, de acordo com técnica já descrita²⁴. As fibras dissecadas foram classificadas conforme Dyck e col. (Figs. 1 a 4). Em todos os animais de experimentação foi dosado DDT em sangue e gordura, através de cromatógrafo a gás CG modelo 2527.

Trabalho realizado na Especialidade de Neurologia do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Paraná: * Professor Assistente. *Agradecimentos:* agradecemos ao Dr. Dilermando Brito Filho, toxicologista-chefe do Instituto Médico-Legal do Estado do Paraná, a gentileza da dosagem do DDT, aos Drs. Milberto Scaff e José Antonio Levy pelas sugestões apresentadas e ao Professor José Luiz B. Kesikowski pelo assessoramento na análise estatística.



Fig. 1 — Montagem fotográfica de uma fibra A microdissecada. As setas na linha f indicam artefatos de dissecção. As alterações nas linhas k e l não devem ser consideradas pois estão na extremidade da fibra. Aumento: 100 vezes.

RESULTADOS

O nível de DDT e de seus metabólicos variou de fraco a forte em todos os ratos, tanto em sangue como em gordura (Tabela 1). Foram considerados os seguintes níveis do DDT na dosagem: + = *traços*, quantidade inferior a 5 mg/kg de peso; ++ = *fraco*, quantidade entre 10 e 30 mg/kg de peso; +++ = *moderado*, entre 30 e 80 mg/kg de peso; ++++ = *forte*, entre 80 e 100 mg/kg de peso. Foram dissecadas 2367 fibras dos nervos gênito-femorais dos ratos estudados. Destas foram excluídas 1171 fibras, consideradas inadequadas para análise por estarem agrupadas mais de 2 fibras, por serem excessivamente curtas (com menos de 5 internodos) ou por apresentarem muitos artefatos. As restantes 1196, após classificadas, mostraram os seguintes resultados: fibras A + B = 1024 fibras (86%) e fibras tipos C + D + E + F + G = 172 (14%). Não obtivemos nenhum exemplar de fibras H ou I. (Tabela 2) Efetuamos análise estatística desse material, em comparação com o padrão normal do nervo gênito-femural do rato albino 24, aplicando o teste do chi-quadrado (Tabela 3).

Nível	Rato									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
sangue	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++
gordura	++	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++

Tabela 1 — Níveis de DDT e metabólitos registrados

Fibra	A		B		C		D		E		F		G		Total
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%	
1	80	85	—	—	14	5	—	—	—	—	—	—	—	—	94
2	100	86	—	—	14	2	—	—	—	—	1	1	—	—	116
3	133	84	1	1	22	14	1	1	—	—	—	—	—	—	157
4	92	84	—	—	15	14	1	1	—	—	—	—	1	1	109
5	91	90	—	—	10	10	—	—	—	—	—	—	—	—	101
6	82	84	—	—	16	16	—	—	—	—	—	—	—	—	98
7	132	88	—	—	18	12	—	—	—	—	—	—	—	—	150
8	69	81	1	1	15	18	—	—	—	—	—	—	—	—	85
9	126	91	1	1	6	6	1	1	—	—	1	1	—	—	135
10	116	77	—	—	33	22	—	—	1	1	—	—	1	1	151
Total	1021		3		163		3		1		2		3		1196

Tabela 2 — Distribuição dos tipos de fibras do nervo gêmito-femural do rato albino intoxicado pelo DDT.

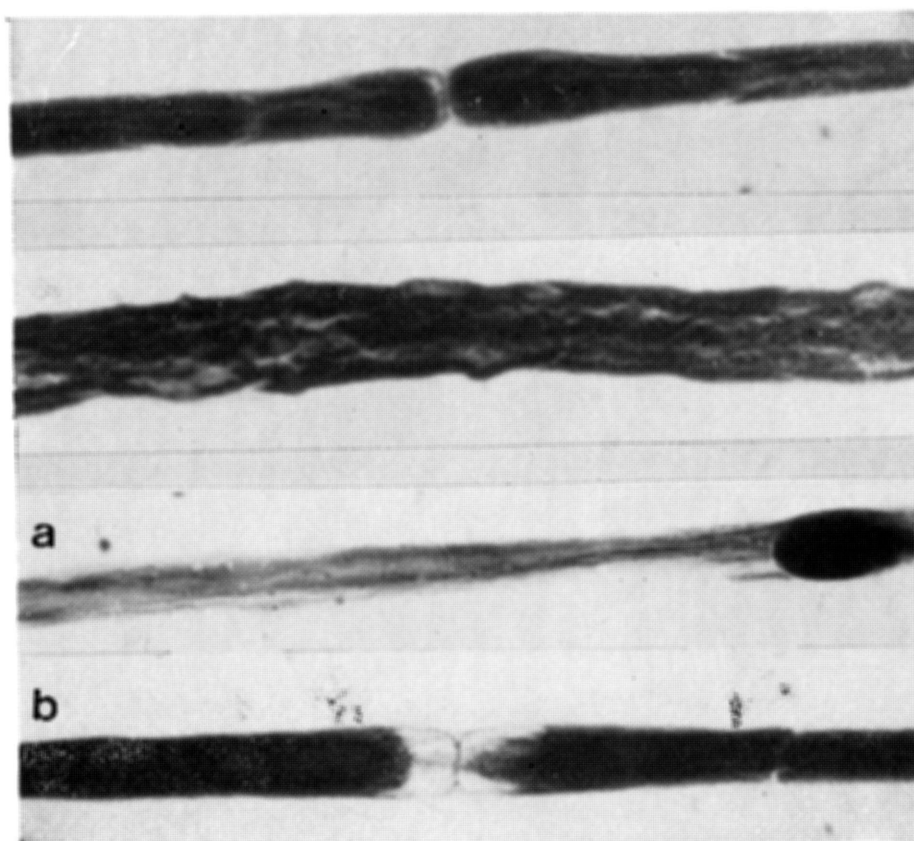


Fig. 2 — No alto, fibra tipo A: mielina regular e nodo de Ranvier sem alterações; aumento: 400 vezes. No meio, fibra tipo B: irregularidade da bainha de mielina; aumento: 600 vezes. Em baixo, fibra tipo C: desmielinização internodal (a) e desmielinização paranodal (b); aumento: 400 vezes.

Grupo	Fibras A + B	Fibras C + D + E + F + G	Total
normal	1033 (936)	24 (91)	1027
teste	1024 (1091)	172 (105)	1196
total	2027	196	2223
	$\chi^2_{(1)} = 101,00$		$p < 0,0001$

Tabela 3 — Teste do chi-quadrado aplicado ao grupo normal e ao grupo-teste.

COMENTARIOS

O DDT é defensivo agrícola do grupo organoclorado, subgrupo dos derivados etanoclorados. O grupo possui grande estabilidade química, bom espectro de ação e afinidade por tecido adiposo. Atuam predominantemente no sistema nervoso central (sendo também designados como neurovenenos). O DDT age como inseticida de contato e de ingestão, persiste nos alimentos e solo devido à sua estabilidade química bem como se deposita no tecido adiposo de animais e do homem 1, 3, 6, 7, 14, 16, 19, 20, 22, 27. É situado entre os produtos medianamente tóxicos, com dose letal média citada de 50 a 500 mg/kg de peso 17, 29, e 113 mg/kg de peso (ratos machos) a 118 mg/kg de peso (ratos fêmeos) quando

Tipo	Subdivisão	Achados na microdissecção	Descrito em
Axonal	Degeneração neuronal com degeneração axonal (comprometimento de todo o neurônio)	Fibras E, principalmente Fibras B e C	Esclerose lateral amiotrófica, poliomielite, doença de Werdnig-Hoffmann, herpes zoster, neuropatia secundária a carcinoma, déficit de B12 e insuficiência renal.
	Degeneração axonal distal (comprometimento da porção distal do neurônio)	Fibras E, principalmente	Diabetes melito, mieloma múltiplo, intoxicação por TOCP, deficiência de B12, vitamina E, tiamina e ácido pantotênico, intoxicação por inseticida e paraplegia espástica familiar.
	Degeneração neuronal com atrofia axonal (processo crônico associado com formação em casca de cebola)	Fibras D e G	Ataxia de Friedreich, Charcot Marie-Tooth, algumas outras degenerações espino-cerebelares, algumas neuropatias sensitivas hereditárias.
	Atrofia axonal distal (processos crônicos associados com formação em casca de cebola)	Fibras D e G	Neuropatia hipetrófica de Déjérine-Sottas, leucodistrofia metacromática, doença de Refsum.
Segmentar	Primária (lesão primária da célula de Schwann)	Fibras F	Neurite periférica alérgica experimental, diabetes melito, porfíria aguda intermitente, leucodistrofia metacromática, doenças de Krabbe, Dejerine-Sottas e Refsum, difteria, intoxicação por chumbo e álcool e possivelmente nas doenças de Niemann-Pick e Fabry.
	Secundária (lesão secundária da célula de Schwann e relacionada com a degeneração ou a atrofia axonal).	Fibras F	As mesmas condições citadas para atrofia ou degeneração axonal.
Walleriana		Fibras E, caracteristicamente não há aumento de B ou C	Neuropatias por secção, compressão, isquemia ou reação inflamatória do nervo.

Tabela 4 — Tipo de degeneração da mielina e sua apresentação conforme o tipo de fibra observada na microdissecção.

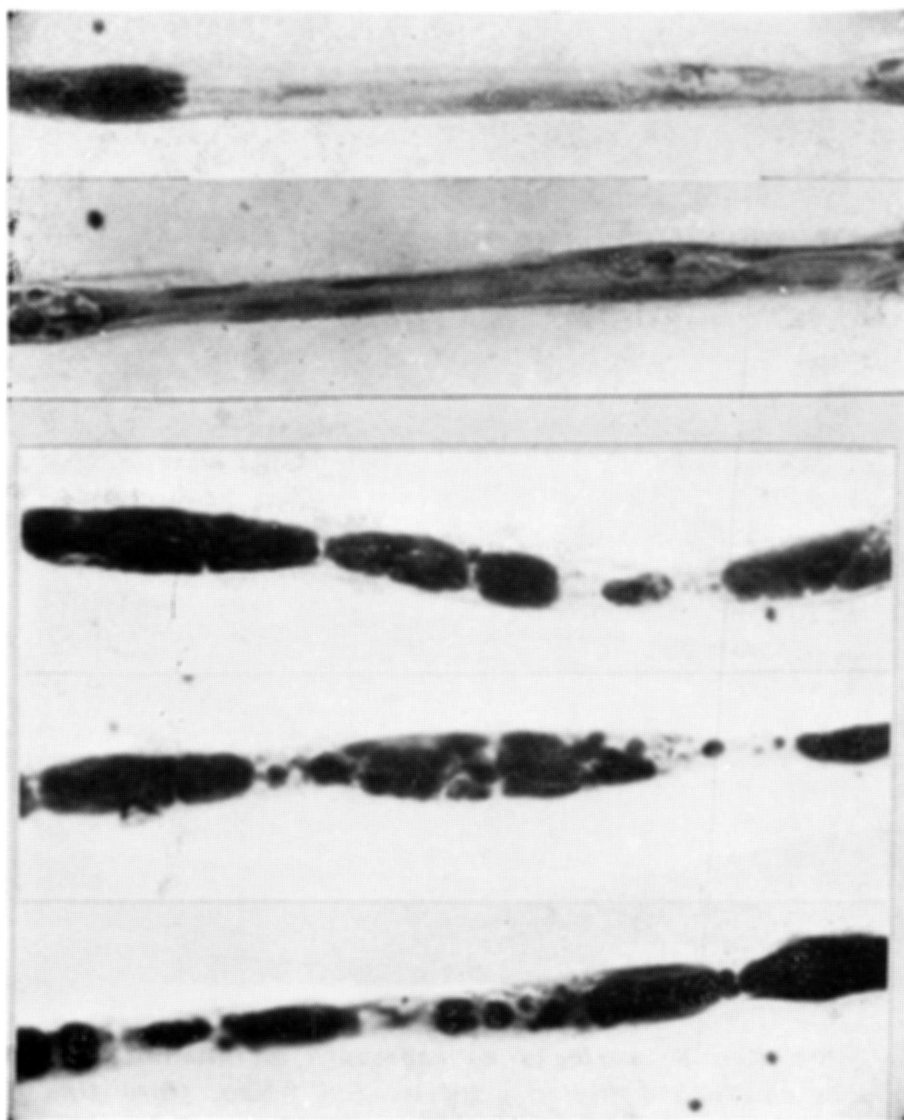


Fig. 3 — No alto, fibra tipo D: desmielinização internodal; aumento: 400 vezes. Em baixo, fibra tipo E: formação em glóbulos de mielina; aumento: 400 vezes.

ingerido²². A dose capaz de provocar sinais e sintomas de intoxicação aguda no homem é estimada em 10 mg/kg de peso²³. Não há esclarecimento definitivo acerca do mecanismo de ação tóxica. É possível haver bloqueio no transporte de potássio através da membrana do axônio²³. Há que se considerar a concomitância de intoxicação pelos solventes do DDT, principalmente querosene, nas intoxicações agudas³.

A proporção dos diferentes tipos de fibras dissecadas de nervo periférico permite uma correlação com as diferentes formas de degeneração da mielina (tabela 4)^{2, 8, 28, 30}. O presente trabalho, correlacionando os achados dos ratos intoxicados com um padrão normal, permite concluir que a intoxicação crônica por DDT não determina degeneração da mielina do tipo segmentar, devido à baixa incidência de fibras tipo F. A degeneração walleriana é excluída tanto pela sistemática da pesquisa como pela não ocorrência anormal de fibras E. A proporção anormal de fibras tipo C encontrada permite concluir por haver uma degeneração do tipo axonal distal. O caráter de maior certeza é o de que o DDT, na dose de 5 mg/kg de peso, administrado por ingestão por período prolongado e diariamente, determina lesão no nervo periférico.

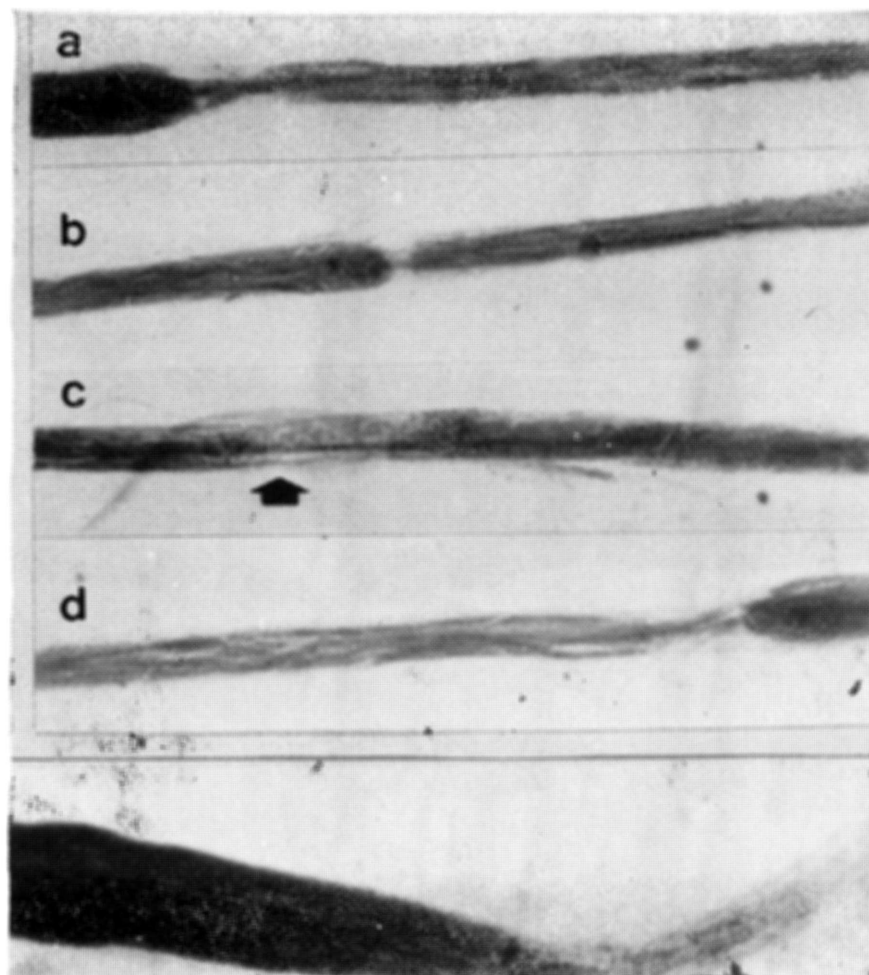


Fig 4 — No alto, fibra tipo F: variação na espessura da mielina internodal; aumento: 400 vezes; a seta na linha c indica artefato. Em baixo, fibra tipo G: variação na espessura da mielina; aumento: 400 vezes.

RESUMO

Estudou-se o nervo gênito-femural do rato albino submetido a intoxicação crônica por DDT, administrado por 180 dias na dose de 5 mg/kg de peso via oral. Os resultados mostraram proporção anormal de fibras tipo C, sendo sugerido ocorrer degeneração tipo axonal determinada pelo DDT.

SUMMARY

DDT experimental neuropathy. A teased fiber nerve study in rats.

The genito-femural nerves of ten albinic rats chronically intoxicated with DDT (5 mg/kg day during 180 days) was studied by teased fibers examination. It was found 85,37% types A+B fibers, 13,63% type C and 1% of types D, E, F and G. It is concluded that there occurs an axonal degeneration of myelin induced by chronic DDT intoxication.

REFERÊNCIAS

1. ABBOTT, D. C.; GOUDING, R. & TATTON, O. G. — Organochlorine pesticide residues in human fat in Great Britain. *Brit. med. J.* 3:146, 1958.
2. BOTS, G. T. A. M. — Pathology of nerves. In P. J. Vinken, & G. W. Bruyn: *Handbook of Clinical Neurology*. North-Holland Publ. Amsterdam, 1970. Vol. 7, pg. 197.
3. CAMARGO, P. A. M. — Manual de conduta nas intoxicações por defensivos agrícolas. In: A. C. Souza; W. F. Almeida; R. B. Lindemberg & P. A. M. Camargo: *Defensivos Agrícolas. Contribuição do Uso Adequado e Prevenção nas Intoxicações*. Secretaria de Estado da Agricultura, Curitiba, 1979, pg. 55.
4. CAMERON, G. R. & BURGESS, F. — The toxicity of 2,2-bis (p-chlorophenyl) 1, 1,1 - trichlorethane (DDT). *Brit. med. J.* 1:865, 1945.
5. CAMPBELL, A. M. G. — Neurological complications associated with inseticides and fungicides. *Brit. med. J.* 2:415, 1952.
6. CAMPBELL, J. E.; RICHARDSON, L. A. & SCHAFER, M. L. — Inseticides residues in the human diet. *Arch environ. Health* 10:831, 1965.
7. CASARET, L. J.; FRYER, F. C.; YAUGER, W. L. & KLEMMER, H. W. — Organochloride pesticide residues in human tissue-Hawaii. *Arch. environ. Health* 17:306, 1968.
8. DYCK, P. J. — Pathologic alterations of the peripheral nervous system of man. In: P. J. Dyck; P. K. Thomas & E. H. Lambert: *Peripheral Neuropathy*. W. B. Saunders, Philadelphia, 1975.
9. DYCK, P. J.; JOHNSON, W. J.; LAMBERT, E. H. & O'BRIEN, P. C. — Segmental demyelination secondary to axonal degeneration in uremic neuropathy. *Mayo Clin. Proc.* 46:400, 1971.
10. DYCK, P. J.; LAIS, A. C.; KARNES, J. L.; HUNDER, H.; LOW, P. A. & WINDEBANK, A. J. — Permanent axotomy, a model of axonal atrophy and secondary segmental demyelination and remyelination. *Ann. Neurol.* 9:575, 1981.
11. FRÉJAVILLE, J. P.; CHRISTOFOROV, B.; BISMUTH, C. & PEBAY-PEYROULA, F. — *Toxicologie Clinique*. Flammarion, Paris, 1971, pg. 462.
12. GARRET, R. M. — Toxicity of DDT for man. *J. med. Assoc. Alabama* 17:74, 1947.
13. HAYES Jr., W. J.; QUINBY, G. E.; WALKER, K. C.; ELLIOTT, J. W. & UPHOLT, W. M. — Storage of DDT and DDE in people with different degrees of exposure to DDT. *Arch. industr. Health* 18:398, 1958.
14. HERMANN, B. — DDT poisoning in man - a case of grave polyneuritis caused by DDT. *Acta med. Acad. Sci. Hung.* 11:209, 1958.
15. HOFFMAN, W. S.; FISHBEIN, W. I. & NADELMAN, M. B. — The pesticide content of human fat tissue. *Arch. environ. Health* 9:387, 1964.
16. JENKINS, R. B. & TOOLE, J. F. — Polyneuropathy following exposure to inseticides. *Arch. int. Med.* 113:691, 1964.
17. KARPINSKI Jr., F. E. — Purpura following exposure to DDT. *J. Pediatr.* 37: 373, 1950.
18. LANG, E. P. & FITZHUGH, O. G. — 2,2-bis (p-chlorophenyl)-1, 1, 1-trichloroethane (DDT) in the tissues of the rat following oral ingestion for periods of six months to two years. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 87:18, 1946.
19. LAWS Jr., E. R.; CURLEY, A. & BIROS, F. J. — Men with intensive occupational exposure to DDT - a clinical and chemical study. *Arch. environ. health.* 15:766, 1967.
20. MACKERRAS, I. M. & WEST, R. F. K. — «DDT» poisoning in man. *Med. J. Aust.* 1:400, 1946.
21. MARTINS, H. & WORTHING, C. R. - *Pesticide Manual*. British Crop Protection Council, ed. 2, 1968, pg. 149.
22. MURPHY, S. D. — Pesticides. In J. Doull; C. D. Klaassen & M. O. Amur: *Toxicology. The Basic Science of Poisons*. Macmillan Publ., ed. 2, New York, 1980, pg. 357.
23. NÓVAK, E. M. & WERNECK, L. C. — Estudo do nervo gênito-femural do rato albino por microdissecção. *Rev. bras. Biol. (em publicação.)*.

24. ONIFER, T. M. & WHISNANT, J. P. — Cerebellar ataxia and neuronitis after exposure to DDT and Lindane. *Mayo Clin. Proc.* 32:67, 1957.
25. ORZANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE — Riesgos del Ambiente Humano para la Salud. Publ. 329 da Organização Panamericana de Saúde, 1976, pg. 157.
26. ROBINSON, J. — Persistent pesticides. *Annual Rev. Pharmacol. Toxicol.* 10:353, 1970.
27. SCHRÖDER, J. M. — Degeneration and regeneration af myelinated nerve, fibers in experimental neuropathies. In P. J. Dyck; P. K. Thomas & E. H. Lambert: *Peripheral Neuropathy*. W. B. Saunders, Philadelphia, 1975, pg. 337.
28. SOUZA, A. C. — Toxicidade de alguns produtos fitossanitários. In A. C. Souza; W. F. Almeida; R. B. Lindemberg & P. A. M. Camargo: *Defensivos Agrícolas. Contribuição do Uso Adequado e Prevenção nas Intoxicações*. Secretaria de Estado da Agricultura, Curitiba, 1979, pg. 11.
29. WERNECK, L. C. & NÓVAK, E. M. — Intoxicações por inseticidas: microdissecção de nervos e histoquímica de músculos em 10 casos. *Arq. Neuro-Psiquiat.* (São Paulo) 37:15, 1979.

Especialidade de Neurologia, Departamento de Clínica Médica - Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná - Rua General Carneiro 181, 13º andar - 80.000, Curitiba, Paraná - Brasil.