



PEIXE-ZEBRA: MODELO DE NEURODEGENERAÇÃO INDUZIDO POR PARAQUAT

HOCK, Cristiano¹; AZZOLIN-BONFANTI, Gabriela²;
BORTOLOTTO, Josiane Woutheres²

Palavras-Chave: Peixe-zebra. Neurodegeneração. Paraquat.

INTRODUÇÃO

O *Danio rerio*, popularmente conhecido como *zebrafish* ou peixe-zebra, é um pequeno teleosteo de água doce proveniente do sudeste da Ásia, Índia e Nepal. Seu habitat natural é a água lentamente fluída, como pequenos riachos, lagoas, córregos e campos de arroz (Engeszer et al., 2007). Seu pequeno tamanho, a capacidade de viver em confinamento e a alta produção de ovos transparentes e grandes, variando de 2 a 300 ovos por fêmea, tornou o peixe-zebra um atrativo para o desenvolvimento de pesquisas, uma vez que pode ser armazenado em grande quantidade em um espaço pequeno e com baixos custos de manutenção laboratorial (Málaga-Trillo et al., 2011). Recentemente, seu genoma foi completamente sequenciado e comparado ao de humanos. A comparação direta entre genes codificadores de proteínas em humanos e peixe-zebra revela que aproximadamente 82% dos genes relacionados com doenças humanas tem ao menos um ortólogo em peixe-zebra (Howe et al., 2013).

O peixe-zebra tem sido utilizado como uma importante ferramenta para a realização de estudos nas áreas de bioquímica, comportamento, toxicologia, mecanismos farmacológicos, pesquisa transgênica, teratologia, neurociências (Kawakami et al., 2016; Kim et al., 2017; Gerlai et al., 2000) entre outros. O acúmulo de conhecimento genético aliado à descrição da organização geral e de circuitos neuronais semelhantes aos observados em mamíferos, presença dos principais neurotransmissores, hormônios e receptores destacaram o peixe-zebra como um importante modelo para estudos comportamentais e neurotoxicológicos (Sager et al., 2010).

Tendo em vista esse panorama, este trabalho tem como objetivo revisar a literatura científica sobre o uso do peixe-zebra em modelo de neurodegeneração induzido por Paraquat (Pq), herbicida amplamente utilizado e consumido no Brasil.

¹ Acadêmico Biomedicina, UNICRUZ, PAPCT e GPAIS. E-mail: cristianohoch1395@yahoo.com.br

² Professoras CCSA, UNICRUZ, PAPCT e GPAIS. E-mail: bortolotto@unicruz.edu.br.



METODOLOGIA

Para a construção deste resumo foram buscados artigos científicos no banco de dados PUBMED; foram incluídos artigos originais de 2005 até a presente data.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O peixe-zebra vem emergindo rapidamente como um importante modelo para estudos neurotoxicológicos e comportamentais. O SNC do peixe-zebra apresenta menor complexidade, porém organização geral e circuitos neuronais semelhantes aos observados em mamíferos (Sager et al., 2010). A presença dos principais neurotransmissores encontrados em mamíferos, incluindo aminoácidos (glutamato, GABA, glicina), monoaminas (histamina, dopamina, norepinefrina, epinefrina, serotonina, melatonina) e acetilcolina, entre outros, bem como seus mecanismos de ação já foram descritos (Rinkwitz et al., 2010). Esse teleósteo apresenta os sistemas motor, sensitivo e endócrino bem desenvolvidos, alta sensibilidade a alterações ambientais e manipulações farmacológicas e um amplo espectro de fenótipos comportamentais conhecidos (Sager et al., 2010).

Na área da neurotoxicologia diversos modelos experimentais já foram descritos no peixe-zebra no que tange a exposição a agentes ambientais, como inseticidas, herbicidas, raticidas, fungicidas e fumigantes. Algumas destas toxinas, como rotenona, paraquat (Pq) ou 1-metil-4-phenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) são conhecidas na área científica por induzirem a perda de neurônios dopaminérgicos criando modelos animais que são capazes de mimetizar as manifestações clínicas de patologias neurodegenerativas (AnichtchiK et al., 2004; Bortolotto et al., 2014; Wang et al., 2017).

O herbicida não seletivo de contato, Paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto), cujo mecanismo de ação está associado ao estresse oxidativo, amplamente utilizado no Brasil, mostrou ser tóxico para animais e seres humanos (Baltazar et al., 2014) sendo associado a patologias de fígado, coração, rim e pulmões. Além disso, o Pq atua em sistema nervoso central causando morte celular e necrose (Gonzalez-Polo et al., 2009). Seu mecanismo de ação no sistema nervoso está associado ao transporte de Pq na sua forma monovalente (Pq^+) para dentro dos neurônios dopaminérgicos através dos transportadores de dopamina. No seu estado nativo, cátion divalente (Pq^{+2}) o Pq não é substrato para o transportador de dopamina, porém quando convertido a Pq^+ por agentes redutores ou pela NADPH oxidase da microglia



ele se torna substrato do transportador de dopamina e se acumula em neurônios dopaminérgicos, onde induz ao estresse oxidativo e citotoxicidade (Rappold et al., 2011).

Estudos recentes vem mostrando que a exposição repetida por via intraperitoneal ao Pq causa mudança no comportamento locomotor e não locomotor do peixe, no sistema dopaminérgico e modula o estresse oxidativo nos encéfalos dos peixes tratados (Bortolotto, et al, 2014; Nunes et al., 2017). Além disso, a exposição ao Pq durante o desenvolvimento embrionário do peixe-zebra mostrou que este pode acelerar o tempo para chocar, devido a modificações na bioenergética mitocondrial (Wang et al., 2018). Estudos também vem mostrando mudanças no comportamento locomotor da larvas e degeneração de neurônios dopaminérgicos e perturbação do sistema colinérgico após tratamento com Pq (Nellore et al., 2015; Wang et al., 2018).

Muller e colaboradores (2018) mostraram que uma dieta com antioxidante, como o selenito de sódio, consegue melhorar a performance comportamental do peixe tratado com Pq, além de modular positivamente parâmetros bioquímicos e de estresse oxidativo; sugerindo que o peixe-zebra é um organismo modelo para o rastreamento de moléculas protetoras contra o dano oxidativo neuronal induzido por paraquat (Muller et al., 2018).

Considerações finais ou Conclusão

Diversos estudos vem mostrando o peixe-zebra como bom modelo para estudo de neurotoxicologia. Neste sentido, esta revisão mostrou que tanto peixe adulto como larvas vem sendo usadas para melhor entender o mecanismo e a atuação do Pq a nível de sistema nervoso. Além disso, seu mecanismo baseado em estresse oxidativo e modulação da bioenergética mitocondrial, sugere que estes modelos podem ser usados em pesquisa para rastrear possíveis moléculas protetoras contra o dano neuronal causado pelo Pq.

Referências

ANICHTCHIK OV, et al. Neurochemical and behavioral changes in zebrafish *Danio rerio* after systemic administration of 6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J Neurochem* 2004; 88: 443–53.

BALTAZAR MT, et al. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases--a mechanistic approach. *Toxicol Lett.* 2014; 230(2): 85-103.



- BORTOLOTTO JW, et al., Long-term exposure to paraquat alters behavioral parameters and dopamine levels in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Zebrafish*. 2014; 11(2): 142-53.
- ENGESZER RE, et al. Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. *Zebrafish*. 2007;4(1):21-40.
- GERLAI R, et al. Drinks like a fish: zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000; 67: 773-782.
- GONZALEZ-POLO, R., et al. Silencing DJ-1 reveals its contribution in paraquat-induced autophagy. *J. Neurochem*. 2009; 109: 889-98.
- HOWE K, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*. 2013; 496(7446):498-503.
- KAWAKAMI K, et al. Gal4 Driver Transgenic Zebrafish: Powerful Tools to Study Developmental Biology, Organogenesis, and Neuroscience. *Adv Genet*. 2016; 95:65-87.
- KIM SS, et al. Zebrafish as a Screening Model for Testing the Permeability of Blood-Brain Barrier to Small Molecules. *Zebrafish*; 2017.
- MÁLAGA-TRILLO E, et al. Fish models in prion biology: underwater issues. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1812: 402-414.
- MÜLLER TE, et al. Sodium Selenite Prevents Paraquat-Induced Neurotoxicity in Zebrafish. *Mol Neurobiol*. 2018; 55(3): 1928-1941.
- NELLORE J, P N. Paraquat exposure induces behavioral deficits in larval zebrafish during the window of dopamine neurogenesis. *Toxicol Rep*. 2015. 16; 2: 950-956.
- NUNES ME, et al. Chronic Treatment with Paraquat Induces Brain Injury, Changes in Antioxidant Defenses System, and Modulates Behavioral Functions in Zebrafish. *Mol Neurobiol*. 2017; 54(6): 3925-3934.
- RAPPOLD PM, et al. Paraquat neurotoxicity is mediated by dopamine transporter and organic cation transporter-3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 20766-71.
- RINKWITZ S, et al. Zebrafish: An integrative system for neurogenomics and neurosciences. *Prog Neurobiol*. 2010; 93 (2):231-243.
- SAGER JJ, et al. Transgenic zebrafish models of neurodegenerative diseases. *Brain Struct Funct*. 2010; 214: 285–302.
- WANG Y, et al. Parkinson's disease-like motor and non-motor symptoms in rotenone-treated zebrafish. *Neurotoxicology*. 2017; 58:103-109.
- WANG XH, et al. Paraquat affects mitochondrial bioenergetics, dopamine system expression, and locomotor activity in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. 2018; 191: 106-117.