

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO CEREBELO DE RATOS SUBMETIDOS A  
EXPOSIÇÃO INALATÓRIA À CIPERMETRINA E AO DICLORVÓS, ISOLADOS E  
EM ASSOCIAÇÃO.**

**Camille Schneider Ribeiro**

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre  
2022

Camille Schneider Ribeiro

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO CEREBELO DE RATOS SUBMETIDOS A EXPOSIÇÃO INALATÓRIA À CIPERMETRINA E AO DICLORVÓS, ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

**Orientadora:** Profa. Dra. Tais Malysz

**Co-Orientadora:** Profa. Dra. Eliane Dallegrave

Porto Alegre  
2022

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Ribeiro, Camille Schneider

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO CEREBELO DE RATOS  
SUBMETIDOS A EXPOSIÇÃO INALATÓRIA À CIPERMETRINA E AO  
DICLORVÓS, ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO. / Camille  
Schneider Ribeiro. -- 2022.

46 f.

Orientadora: Tais Malysz.

Coorientadora: Eliane Dallegrave.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da  
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Neurociências,  
Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Agrotóxicos. 2. Cipermetrina. 3. Diclorvós. 4.  
Cerebelo. 5. Histologia. I. Malysz, Tais, orient. II.  
Dallegrave, Eliane, coorient. III. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Camille Schneider Ribeiro

### **ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO CEREBELO DE RATOS SUBMETIDOS A EXPOSIÇÃO INALATÓRIA À CIPERMETRINA E AO DICLORVÓS, ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

**Orientadora:** Profa. Dra. Tais Malysz

**Co-Orientadora:** Profa Dra Eliane Dallegrave

**Aprovado em:** Porto Alegre, 29 de agosto de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

---

Professora Doutora Taís Malysz  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Professora Doutora Bruna Ferrary Deniz  
Universidade Federal de Pelotas

---

Professor Doutor Marco Antonio Stefani  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## Agradecimentos

Agradeço a Deus pelas oportunidades, pelas providências, pela vida de cada pessoa envolvida neste trabalho e pelo Espírito Santo que nos guia e nos fortalece em meio às adversidades.

Aos meus pais, por todo amor, apoio e por me transmitirem a fé. Muito obrigada, vocês tornam tudo possível e me ensinam todos os dias a ir além das minhas fraquezas e a aceitar os desafios. Amo vocês.

À professora doutora Taís Malysz, pela acolhida na UFRGS, pela orientação, pela tranquilidade em nos guiar a novos caminhos e a novos projetos. Obrigada pela confiança, pelos ensinamentos e pela coragem em seguir a diante a cada novo desafio.

À professora doutora Eliane Dallegrove pelo apoio, pela coorientação, por permitir que participássemos de suas pesquisas e por ceder o material para que este mestrado fosse realizado e concluído.

À Maria Izabel Zaniratti da Rosa, minha dupla em meio ao nosso “Mestrado do Caos”, assim denominado por ter iniciado ao mesmo tempo que a pandemia do COVID-19, implicando em mudanças de projetos e de estratégias. Obrigada pela parceria, obrigada por continuar e me apoiar nos momentos de crise.

À Grace Feijó por ter me “empurrado” ao mestrado, ajudado em diversas etapas deste caminho e por ser minha segunda avaliadora, revisora e debatedora, mesmo do outro lado do oceano. Obrigada pela inspiração, pela calma, por todo suporte e aconselhamento.

Ao Mateus Belmonte Macedo e ao Daniel Schmidt por todo auxílio prestado, ensinamentos e paciência. Sem vocês o Zen não seria tão tranquilo. Muito Obrigada!

Aos amigos Erick da Silva Puls, Fernanda Macchi Hopf, Lucas Hopf, Paôla Cavalcanti e Virgínia Blauth por me apoiarem sempre, pelos ouvidos atentos, pela paciência comigo e com a minha ausência e pelas intervenções que me lembram que há vida fora da academia. Vocês me ajudam a continuar.

Ao Maikel Rosa de Oliveira, pela paciência conosco e pelo trabalho incansável para que essa pesquisa fosse realizada.

Aos professores do PPG Neurociências da UFRGS, pelos ensinamentos, pela acolhida em grupos de pesquisa e disciplinas. Em especial aos professores Alberto Rasia Filho e Marco Antonio Stefani, muito obrigada pelas aulas, acolhida, parceria e pelo auxílio nos projetos.

Aos colegas do PPG Neurociências com os quais organizamos o XII Curso de Neurociências, o primeiro online. Muito obrigada pela dedicação ao curso e pela paciência comigo. A criatividade de vocês é inspiradora e a capacidade de resolver problemas, incrível!

Ao CNPq pela bolsa de Mestrado a qual tornou possível a minha dedicação ao Mestrado em meio a uma Pandemia que nos extraiu tanto.

*"The way of progress is neither swift nor easy".*  
Marie Skłodowska-Curie, Nobel em Física (1903) e  
em Química (1911).

## Resumo

Os agrotóxicos são substâncias químicas utilizadas para o combate de pragas (sejam fungos, insetos ou parasitas) a fim de otimizar a produção agrícola, com variável risco à saúde e ao meio ambiente. Dentre estes agrotóxicos, a cipermetrina é um piretróide tipo II, utilizada no controle de pragas em diversas culturas agrícolas enquanto o diclorvós é um inseticida organofosforado amplamente utilizado, inclusive no ambiente doméstico. Estudos prévios mostram que tanto a cipermetrina quanto o diclorvós podem ter efeitos tóxicos sobre células de Purkinje e granulares do cerebelo. A maioria dos estudos em animais administram estes agrotóxicos via subcutânea ou gavagem, não correspondendo à exposição destas substâncias em humanos, a qual se dá principalmente por via inalatória ou cutânea. Neste trabalho avaliou-se os efeitos da exposição inalatória à cipermetrina, ao diclorvós e à associação destes agrotóxicos no cerebelo de ratos Wistar machos adultos. Foram analisados os cerebelos de 20 ratos, inicialmente com 60 dias de idade, com massa corporal de aproximadamente  $300 \pm 50$ g, que foram alocados em grupos: (1) controle (n=5), (2) cipermetrina (n=5), (3) diclorvós (n=5) e (4) associação [cipermetrina + diclorvós (n=5)]. Todos os grupos foram expostos aos agrotóxicos em concentração equivalente a 1/10 da concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) destas substâncias via inalatória, durante 4 horas/dia, 5 dias/semana, por 6 semanas. Após 24 horas da última exposição, os animais foram eutanasiados com tiopental e lidocaína, decaptados e o cerebelo foi retirado e separado das demais estruturas encefálicas e fixado em formalina a 10% por 48 horas. Um corte sagital foi realizado no verme cerebelar e as peças foram embebidas em parafina. As lâminas foram montadas com cortes histológicos de 5µm de espessura coradas por hematoxilina e eosina. As imagens foram obtidas por meio do microscópio Zeiss Axio Imager Z2 (Alemanha) acoplado a uma câmera digital AxioCam. Dois avaliadores independentes aferiram o percentual de área ocupada pela camada granular e molecular, a área nuclear de células de Purkinje, bem como a densidade linear das células de Purkinje e a densidade de células da camada molecular e granular, utilizando o software Zen 3.5 (Blue Edition) da Carl Zeiss Microscopy (Alemanha). A análise estatística foi realizada através do software Jasp 0.16.02.0. As porcentagens da área da folha ocupada pela camada molecular e pela camada granular foram similares entre os grupos, e representaram, respectivamente de cerca de 53% (p=0,39, teste de Tukey) e 39% (p=0,85, teste de Tukey) da área total das folhas analisadas. Todos os grupos expostos aos agrotóxicos tiveram menor área média nuclear das células de Purkinje quando comparados ao controle (p<0,05, teste de Dunn). Dentre os grupos, somente os animais expostos a diclorvós isolado e em associação com cipermetrina tiveram maior densidade linear das células de Purkinje, maior densidade celular da camada granular, maior densidade celular da camada molecular quando comparados ao grupo controle (p<0,05, teste de Tukey). Dessa forma, o presente estudo indica que a exposição subcrônica inalatória ao diclorvós isolado e associado com cipermetrina diminuiu a área nuclear de células de Purkinje e aumentou a densidade de células de Purkinje, de células da camada granular e de células da camada molecular. Os animais expostos à cipermetrina apresentaram diminuição da área nuclear das células de Purkinje. Portanto, este estudo permitiu identificar efeitos estruturais neurotóxicos da exposição inalatória subaguda de cipermetrina e diclorvós, isolados e em associação, em cerebelo de ratos Wistar.

**Palavras-chaves:** agrotóxicos, cipermetrina, diclorvós, cerebelo, histologia.

## Abstract

Pesticides are chemical substances used to pest control (whether fungi, insects or parasites) in order to optimize agricultural production, with varying risks to health and the environment. Among these pesticides, Cypermethrin is a pyrethroid type II, used in pest control in several agricultural crops, while dichlorvos is a widely used organophosphate insecticide, including in the domestic environment. Previously studies show cypermethrin and dichlorvos toxic effects on purkinje and cerebellar granule cells. Studies in animals administer these pesticides subcutaneously or gavage, not corresponding to the exposure of these substances in humans, which occurs mainly by inhalation or cutaneous route. In this study, were evaluated the effects of inhalational exposure to cypermethrin, dichlorvos and the association of these pesticides on the cerebellum of adult male Wistar rats, using biological material previously collected from 20 male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) with 60 days of age, weighing approximately  $300\pm 50$ g, allocated into: (1) control (n=5), exposed to water, formulation dilution vehicle; (2) cypermethrin (n=5), (3) dichlorvos (n=5) and (4) association [cypermethrin and dichlorvos (n=5)] exposed to the pesticides in a concentration equivalent to 1/10 of median lethal concentration (LC50) by inhalatory route, for 4 hours/day, 5 days/week, for 6 weeks. After 24h of the last inhalation exposure, the animals were euthanasiaded with thiopental and lidocaine, and the cerebellum was separated from the other brain structures and fixed in formalin 10% for 48 hours. A sagittal cut was made in the vermis of the cerebellum which was embedded in paraffin. The samples were sectioned at  $5\mu\text{m}$  thickness and stained with H&E. The images were obtained with a Zeiss Axio Imager Z2 microscope (Germany) with an AxioCam digital camera attached. Two independent evaluators measured the percentage of area occupied by the granular and molecular layer, the linear density of Purkinje cells and the nuclear area of Purkinje cells, as well as the density of cells in the molecular and granular layer. Statistical analisis was performed with Jasp 0.16.02.0. software. The percentages of the folia area occupied by the molecular layer and the granular layer were similar between the groups, and represent, respectively, about 53% ( $p=0.39$ , Tukey test) and 39% ( $p=0.85$ , Tukey test) of the folias total area. All groups exposed to pesticides had lower Purkinje cell mean nuclear area when compared to controls ( $p<0.05$ , Dunn test). Among the groups, only those exposed to Dichlorvos isolated and their association with cypermethrin had higher linear density of Purkinje cells, higher cell density of the granular layer, and higher cell density of the molecular layer when compared to the control group ( $p<0.05$ , Tukey test). Therefore, this study suggests that the subchronic inhalatory exposure to dichlorvos isolated or in association to Cypermethrin decreased the Purkinje cells nuclear area and incresead the linear density of Purkinje cells and the density of cells on granular and molecular layers. The Wistar rats exposed to cypermethrin isolated reduced the Purkinje cells nuclear area. Accordingly, this study shows the neurotoxic effects of subacute inhalatory exposure to cypermethrin and dichlorvos, isolated and in association in Wistar rats' cerebellum.

**Key-words:** pesticides, cypermethrin, dichlorvos, cerebellum, histology.



## SUMÁRIO

<b>Resumo</b> .....	<b>7</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>8</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1 AGROTÓXICOS.....	10
1.1.1 Classificação dos agrotóxicos.....	12
1.1.2 Cipermetrina .....	13
1.1.3 Diclorvós .....	13
1.1.4 Exposição aos agrotóxicos .....	14
1.2 CEREBELO.....	15
1.2.1 Anatomia macroscópica.....	15
1.2.2 Estrutura microscópica .....	16
1.2.3 Funções do cerebelo .....	18
1.2.4 Ações dos Agrotóxicos Sobre o Cerebelo .....	19
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>21</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>4 HIPÓTESES</b> .....	<b>22</b>
<b>5 ARTIGO</b> .....	<b>23</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>42</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 AGROTÓXICOS

No Brasil, conforme a lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, agrotóxicos são:

“a) os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos; b) substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento;” (Art. 2º em BRASIL, 1989).

Esta lei, também regula pesquisa, experimentação, produção, embalagem, rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, importação e exportação, destino final dos resíduos e das embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins (BRASIL, 1989). Nela também consta a proibição do registro, e, portanto, uso, de substâncias que não possam ser desativados, que provoquem riscos ao meio ambiente e à saúde pública, ou para as quais não haja antídoto ou tratamento no País; que sejam teratogênicos, carcinogênicos ou mutagênicos ou que provoquem alterações hormonais do aparelho reprodutor ou que se revelem mais perigosos aos homens do que os testes realizados em laboratórios em animais de acordo com resultados atualizados da comunidade científica, ou ainda que causem danos ao meio ambiente ( §6º do Art. 3º em BRASIL, 1989).

O nono artigo desta lei (BRASIL, 1989) confere à União a responsabilidade de legislar sobre produção, registro, comércio, exportação, importação, transporte, classificação e controle tecnológico e toxicológico; bem como analisar os agrotóxicos, seus componentes e afins, nacionais e importados; controlando e fiscalizando a produção e os estabelecimentos de produção, exportação e importação destas substâncias. O artigo 19 da mesma lei (BRASIL, 1989) ainda determina que cabe ao Poder Executivo o desenvolvimento de ações educativas para divulgação e esclarecimento, estimulando o uso seguro e eficaz dos agrotóxicos, seus componentes e afins, a fim de reduzir os efeitos prejudiciais para os seres humanos e o meio ambiente além de prevenir acidentes decorrentes de sua utilização imprópria.

Tramita no Brasil a proposta de lei nº 6299 de 2002 – já aprovada na câmara dos deputados em 09 de fevereiro de 2022, estando sob análise no Senado– que visa modificar os 3º e 9º artigos da lei nº 7802 de 1989, flexibilizando: (1) as normas para aprovação de novos agrotóxicos, dispensando a avaliação e a autorização destes pelos Ministérios da Saúde, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e do Meio Ambiente, (2) comércio, transporte e fiscalização dos agrotóxicos (BRASIL, 1989; BRASIL, 2002). Entre outros impactos desta proposta de lei, há a possibilidade de utilização de produtos com efeito oncogênico, mutagênico ou teratogênico “aceitável”, que é proibida pela legislação vigente. Adicionalmente propõe a substituição do termo “agrotóxico” por “pesticida” ou “produto de controle ambiental e afins” a fim de reduzir o impacto negativo que a sociedade atribui aos agrotóxicos, tentando induzir à ideia de um produto voltado ao desenvolvimento agrícola sustentável (BRASIL, 1989; BRASIL, 2002a). Assim, há a possibilidade de aumento da exposição tóxica e a ocorrência de mais acidentes com crianças e idosos, tornando o uso dos pesticidas um problema de saúde pública maior que a atual exposição ocupacional; além de que os efeitos destas substâncias a longo prazo – envolvendo disrupção endócrina, imunotoxicidade, neurotoxicidade e câncer, muitas vezes subestimados pela dificuldade em estabelecer onexo causal na pesquisa epidemiológica humana – serão ocultados (BASSANI et al., 2018).

Independente do termo empregado, são substâncias químicas utilizadas para o combate de pragas (sejam fungos, insetos ou parasitas) ou seus vetores a fim de otimizar a produção agrícola, com variável risco à saúde e ao meio ambiente, sendo o Brasil um dos seus maiores consumidores (BRASIL, 2002b; CARNEIRO et al., 2015).

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com seu alvo, mecanismo de ação, grupo químico ao qual pertence, nível de toxicidade ou risco ambiental oferecido (INCA, 2021). Conforme o grupo químico ao qual pertencem, os agrotóxicos podem ser classificados, principalmente, como organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, entre outros; sendo os inseticidas organofosforados e piretróides os mais utilizados atualmente (FARIA et al., 2009; INCA, 2021; KAPELEKA et al., 2021).

### 1.1.1 Classificação dos Agrotóxicos

#### a) Quanto ao Grupo Químico ao Qual Pertencem

Os organofosforados agem como inibidores irreversíveis da colinesterase – enzima que degrada o neurotransmissor acetilcolina, responsável pela excitação de diversas células–, considerados agrotóxicos não persistentes por serem rapidamente degradados no ambiente, mas são considerados os agrotóxicos de maior toxicidade aguda; os piretróides, são compostos derivados da piretrina (substância encontrada em plantas do gênero *Chrysanthemum*) ou sintéticos utilizados em ambiente rural e doméstico no combate a insetos, agindo sobre canais iônicos principalmente, são subdivididos em piretróides tipo I e tipo II – tipo I agem pelo bloqueio de canais de sódio, enquanto os do tipo II agem também inibindo receptores GABAérgicos; os organoclorados são considerados como poluentes orgânicos persistentes por sua lenta degradação e capacidade de acumulação nos organismos e por isso proibidos no Brasil e em outros países; e os carbamatos são agrotóxicos não persistentes, inibidores reversíveis da colinesterase e utilizados principalmente como inseticidas (KOBAYASHI et al., 1980; SINGH et al., 2012; MOHAMMADI et al., 2019; INCA, 2021).

#### b) Quanto à Toxicidade

Conforme a ANVISA, em Resolução da Diretoria Colegiada (RDC Nº 294 de 29 de julho de 2019), os agrotóxicos são classificados em cinco categorias conforme a toxicidade **aguda** do produto que devem ser informados em bula e rótulo por meio de cor, palavra de advertência e pictograma a categoria/classe ao qual pertence a substância (ANVISA, 2019). Assim:

- Categoria 1: Produto Extremamente Tóxico: faixa vermelha, perigo e pictograma representado por losango contendo caveira e ossos cruzados, representam as substâncias fatais se ingeridas, inaladas ou contatas pela pele.
- Categoria 2: Produto Altamente Tóxico: idem à categoria 1.
- Categoria 3: Produto Moderadamente Tóxico: faixa amarela, perigo e pictograma representado por losango contendo caveira e ossos cruzados, representam as substâncias tóxicas se ingeridas, inaladas ou contatas pela pele.

- Categoria 4: Produto Pouco Tóxico: faixa azul, cuidado, pictograma losango contendo ponto de exclamação, refere-se a produtos nocivos se ingeridas, inaladas ou contatas pela pele.
- Categoria 5: Produto Improvável de Causar Dano Agudo: faixa azul, cuidado, sem pictograma, são as substâncias que podem ser perigosas se ingeridas, inaladas ou contatas pela pele.
- Não Classificado – Produto Não Classificado: faixa verde, não possui pictograma nem palavra de advertência, representa os produtos de baixíssimo potencial danoso em exposição aguda.

### 1.1.2 Cipermetrina

A cipermetrina - composto químico: (RS)- $\alpha$ -cyano-3-phenoxybenzyl (1RS, 3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate -, inseticida piretróide classe II, que é utilizado no Brasil para o controle de pragas em lavouras e contra formigas (ANVISA, 2020a). Os efeitos tóxicos da cipermetrina são dose e tempo dependentes, há possibilidade de efeitos hepáticos e renais, além de efeitos neurotóxico como vacuolização e proliferação de células gliais em tecido cerebral (GREWAL et al., 2010; KANBUR et al., 2015). A neurotoxicidade da cipermetrina se deve, principalmente, ao seu efeito sobre canais de sódio voltagem dependentes, estresse oxidativo e inflamação, podendo provocar neurodegeneração, redução de células de Purknje e de células granulares pela exposição prolongada a esta substância, coreoatetose, redução do nível de serotonina e dopamina em diferentes regiões encefálicas quando a exposição a ela é subaguda (SINGH et al., 2012; ELSAWY et al., 2017; MOHAMMADI et al., 2019). Além destes efeitos, a cipermetrina também causa hiperexcitabilidade do SNC ao inibir os canais de cloreto voltagem-dependentes e a captação de íons cloreto dependente de GABA causando aumento extracelular deste neurotransmissor, comprometendo a coordenação motora, por exemplo (SINGH et al., 2012; GÓMEZ-GIMÉNEZ et al., 2018).

### 1.1.3 Diclorvós

Diclorvós (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate, DDVP) é um inseticida organofosforado com uso domissanitário autorizado pela ANVISA em formulações não-volatilizantes contra pulgas e moscas (ANVISA, 2020b). O diclorvós atua como

inibidor irreversível da colinesterase, quando administrado via subcutânea aguda ou cronicamente, provocando sinais como salivação excessiva, miose, tremor e fasciculações em ratos, além de aumentar os níveis de acetilcolina no sistema nervoso central (SNC) naqueles animais expostos cronicamente ao DDVP (KOBAYASHI et al., 1980). A exposição crônica ao DDVP (administração subcutânea) também parece alterar atividades mitocondriais, aumentar a produção de radicais livres e reduzir a dopamina na substância nigra e estriado, bem como reduzir a quantidade de neurônios dopaminérgicos (BINUKUMAR et al., 2010). Quando DDVP foi administrado oralmente em única dose em ratos, observou-se, em cérebro e cerebelo, redução da glutatona, aumento do estresse oxidativo, bem como alterações morfológicas como cromatólise das Células de Purkinje (OCHIGBO et al., 2017).

#### **1.1.4 Exposição aos Agrotóxicos**

Em estudo realizado na região de Bento Gonçalves (FARIA et al., 2009), observou-se que os organofosforados são utilizados por 97,4% dos agricultores entrevistados e os piretróides por 55,3% deles, sendo os organofosforados apontados como causa de intoxicação em 16% dos casos. No mesmo estudo, os casos de possíveis intoxicações foram mais frequentes entre os trabalhadores que não utilizavam máscara (FARIA et al., 2009). Santana, descreveu que apenas 32,5% dos trabalhadores rurais no interior do Piauí utilizavam máscaras ao aplicar agrotóxicos e 15% deles já haviam apresentado sintomas de intoxicação como cefaléia, tontura ou reações cutâneas (SANTANA et al., 2016).

Kapeleka et al. (2021) descreveram a associação de piretróide e organofosforado como a associação mais frequentemente utilizada na produção de tomates e cebolas na Tanzânia e que a mistura de agrotóxicos têm sido uma prática crescente entre os agricultores.

Existem alguns biomarcadores utilizados para identificação de agrotóxicos em humanos, mas poucos são específicos e não são utilizados rotineiramente para avaliar a exposição ocupacional a eles (DALMOLIN et al., 2020).

Em humanos, a exposição a agrotóxicos dita ocupacional, domiciliar ou uso habitual refere-se à exposição inalatória e cutânea a estes compostos. Esta via já foi relatada como fonte de intoxicações com efeitos sobre os sistemas nervoso, cardiovascular e pulmonar e como causa de redução dos níveis de acetilcolinesterase

e butirilcolinesterase em agricultores (LINARES et al., 2005; RANGARAJU & WEBB, 2013; TAVARES et al., 2019). A exposição inalatória e cutânea a organofosforados e piretróides já foi relatada como causa de óbitos em humanos (WAX & HOFFMAN, 1994; LIANG et al., 2018).

Dados do Centro de Informações Toxicológicas do Rio Grande do Sul (CIT-RS), informam que, entre os piretróides, a cipermetrina foi o ingrediente ativo mais envolvido em atendimentos devido à exposição humana, enquanto o diclorvós foi um dos agrotóxicos mais envolvidos nesse tipo de exposição, tanto quando utilizados como agrotóxicos, quanto como inseticidas de uso doméstico e veterinário (essa última forma de exposição cabe apenas ao diclorvós) (CIT-RS, 2020). No mesmo relatório, a maior forma de exposição que gerou o atendimento do CIT-RS por agrotóxicos ou inseticidas de uso doméstico foi o acidente individual, seguido por tentativa de suicídio, para ambas as classes e acidente ocupacional no caso da cipermetrina (CIT-RS, 2020).

A exposição inalatória de ratos à cipermetrina e ao diclorvós isoladamente e em associação de maneira aguda e subcrônica, provocou o aumento de atividade de enzimas hepáticas, de eletrólitos, creatinina e ureia, bem como está relacionada a alterações hematológicas e estruturais em nervo laríngeo recorrente, além de efeitos ototóxicos (NWANKWO et al., 2019; CUNHA et al., 2020; MACEDO et al., 2021).

## 1.2 CEREBELO

### 1.2.1 Anatomia macroscópica

O cerebelo é uma estrutura encefálica derivada do rombencéfalo, localizada na fossa posterior do crânio, infratentorial e posterior ao IV ventrículo (do qual forma o teto), que o separa da ponte e do bulbo; é unido ao tronco encefálico bilateralmente através dos três pedúnculos cerebelares, os quais incluem as fibras aferentes e eferentes associadas ao cerebelo (MALYSZ et al., 2017; DRAKE, 2021).

É dividido em dois hemisférios, ligados pelo verme na linha média, e é formado por folhas, as quais são separadas entre si por fissuras (DRAKE, 2021). O cerebelo é ainda dividido em três lobos por meio de três fissuras principais: a fissura primária, que separa os lobos anterior e posterior; a fissura posterolateral, que separa o lobo floculonodular, formado pelo flóculo de cada hemisfério e o nódulo do verme; e a fissura horizontal, que margeia as superfícies inferior e superior do cerebelo (DRAKE,

2021). Os lobos cerebelares ainda são divididos em lóbulos, numerados de I a X, de forma que o lobo anterior é formado pelos lóbulos I a V, além de parte do VI e do VIII e o lobo posterior é formado pelos lóbulos VI a IX e o lobo floccunodular é formado pelo lóbulo X.

As folhas cerebelares são formadas pelas circunvoluções do córtex cerebelar em meio às fissuras, são equivalentes aos giros do telencéfalo (RIBEIRO et al., 2016). O padrão de distribuição das folhas cerebelares pode ser observado em cortes sagitais do cerebelo, elas têm uma região central formada pela substância branca e um córtex organizado em três camadas: Camada Granular, Camada das Células de Purkinje e Camada Molecular (DRAKE, 2021).

Há ainda, na região profunda da substância branca do cerebelo, quatro núcleos cerebelares, responsáveis pelas eferências cerebelares: denteado, emboliforme, globoso (em conjunto estes dois são chamados de núcleo interposto) e fastigial, sequencialmente da lateral para a linha média (DRAKE, 2021).

O cerebelo recebe aferências (1) do córtex cerebral através do núcleo pontino anterior; (2) de núcleos do tronco encefálico: colículo, núcleo vestibular, formação reticular e oliva inferior; e (3) da medula espinal por meio dos tratos espinocerebelares dorsal e ventral (D'ANGELO, 2018). As eferências cerebelares são emitidas a partir dos núcleos profundos do cerebelo, os quais projetam-se a núcleos do tronco encefálico, conforme a informação que carregam e o destino dela, como a formação reticular primária, núcleo rubro, núcleo vestibular e oliva inferior, que por sua vez são projetados ao córtex através do tálamo (D'ANGELO, 2018).

### **1.2.2 Estrutura microscópica**

O cerebelo contém, aproximadamente, 50% dos neurônios encefálicos, organizados em uma rede sináptica complexa constituída por sete tipos de neurônios: estrelados e em cesto na camada molecular, de Purkinje na camada de Purkinje, granulares, de Golgi, célula de Lugaro e células unipolar em escova na camada granular; além das terminações aferentes das fibras trepadeiras e musgosas neurogliais (MALYSZ et al., 2017).

A camada molecular é a camada mais externa do córtex cerebelar, abaixo da piamater, onde se encontram as células estreladas, células em cesto, separadas



pelos dendritos das células de Purkinje e axônios das células da camada granular (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2018; GARTNER, 2022).

A camada granular (ou granulosa) é a camada mais interna, adjacente à substância branca, constituída por células granulares e glomérulos, que são ilhas cerebelares onde ocorrem as sinapses aferentes às células desta camada (OVALLE & NAHIRNEY, 2014; GARTNER, 2022). Os neurônios desta camada têm, aproximadamente, 05µm de diâmetro, têm apenas o núcleo aparente por seu citoplasma escasso, o axônio destas células se projeta à camada molecular, perdendo a bainha de mielina e se bifurcando na superfície do cerebelo – por essa disposição paralela à superfície, esses axônios são chamados de fibras paralelas– e fazem contato com os dendritos das células de Purkinje (OVALLE & NAHIRNEY, 2014). As células granulares têm a capacidade de representar detalhadamente o contexto sensoriomotor, permitindo às células de Purkinje perceberem discretas modificações contextuais, além de possivelmente estarem relacionadas ao aprendizado e a expectativa de recompensas (WAGNER et al., 2017).

A árvore dendrítica das células de Purkinje, que consiste em ramos primários e secundários e espinhos dendríticos, recebe informações (*inputs*) de fibras paralelas glutamatérgicas que se originam de células granulares; essa entrada excitatória é modificada por sinapses inibitórias das células estreladas e em cesta circundantes que usam o ácido g-aminobutírico (GABA) como seu transmissor, as cestas terminais sobre as células de Purkinje também são GABAérgicas (KOEPEEN, 2018).

A camada das células de Purkinje está entre as camadas molecular e granular, contém apenas estes neurônios organizados em linha (OVALLE & NAHIRNEY, 2014; GARTNER, 2022). As células de Purkinje são exclusividade do cerebelo e são os maiores neurônios do encéfalo, têm 50-80µm de diâmetro. Seus dendritos são arborizados na camada molecular, já seu axônio é projetado à substância branca; é a única eferência do córtex cerebelar, realizando sinapses apenas inibitórias, por meio do neurotransmissor GABA (OVALLE & NAHIRNEY, 2014; GARTNER, 2022).

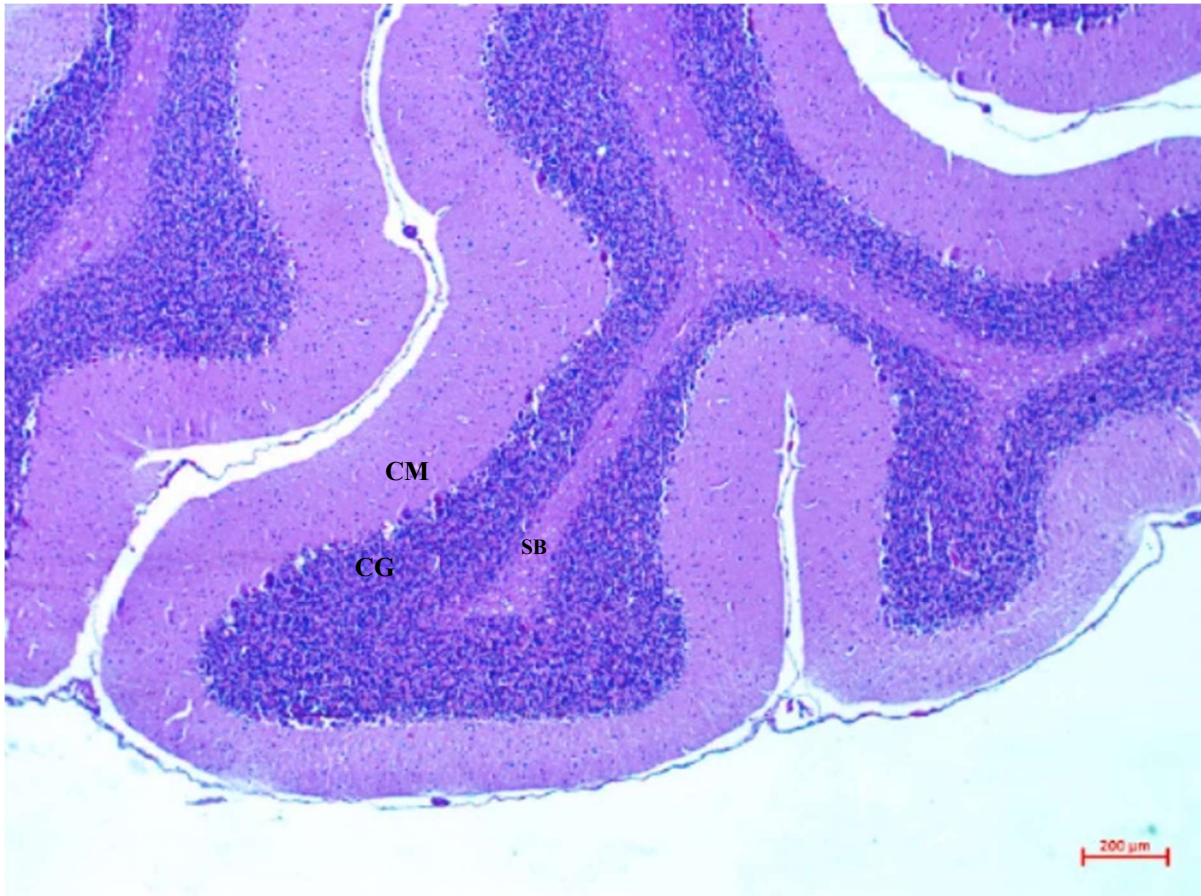


Figura 1. Imagem de um corte histológico cerebelar de ratos Wistar no plano sagital com coloração através de Hematoxilina-Eosina com aumento de 5x. Em uma folha cerebelar é possível identificar a CM, Camada Molecular; CG, Camada Granular e SB, Substância Branca. Imagem do autor.

### 1.2.3 Funções do Cerebelo

Atualmente, entende-se que o cerebelo não está apenas relacionado a funções motoras, mas também a funções cognitivas, incluindo linguagem e emoções (MARIËN & BORGATTI, 2018). Alterações comportamentais e cognitivas como espectro autista, déficit de atenção e hiperatividade, dislexia e mutismo têm sido correlacionadas com alterações cerebelares e com a conectividade cérebro-cerebelo (STOODLEY, 2016; SCHMAHMANN, 2019).

Estudos utilizando exames funcionais de ressonância magnética têm demonstrado a organização topográfica destas múltiplas funções (GUELL & SCHMAHMANN, 2020). De acordo com a função a ser executada, as regiões cerebelares se conectam a diferentes regiões cerebrais: o cerebelo motor é conectado ao córtex motor e o cerebelo cognitivo-afetivo conecta-se às áreas associativas corticais e límbicas (MARIËN & BORGATTI, 2018).

O lobo anterior do cerebelo é correlacionado a funções de processamento sensoriomotor, enquanto o lobo posterior, a funções cognitivas e emocionais (SCHMAHMANN, 2019).

Cada hemisfério cerebelar é responsável pelo controle motor ipsilateral do corpo, de forma que a região do verme influencia os movimentos da musculatura axial, a zona intermediária, os distais dos membros, e a zona lateral participa dos movimentos sequenciais de todo o corpo (DRAKE, 2021).

A região posterior do cerebelo exerce influência sobre o desenvolvimento do comportamento social e a flexibilidade ou adaptação comportamental, sendo que distúrbios nesta região podem resultar em comportamento semelhante ao espectro autista (BADURA, 2018; ROUX et al., 2019).

Parte do lóbulo VI, o lóbulo VII (lóbulo VIIA no vermis, crus I e II nos hemisférios, lóbulo VIIB e a maior parte do lóbulo IX) estão ligados de maneira recíproca com as áreas de associação do córtex cerebral relacionado com o comportamento de ordem superior: o córtex pré-frontal, córtex parietal posterior, regiões polimodais temporais superiores, giro do cíngulo e área para-hipocampal posterior. O núcleo denteado do cerebelo conduz os eferentes do lobo posterior cerebelar para essas regiões de ordem superior do córtex cerebral. As interconexões recíprocas do núcleo olivar inferior com o lobo posterior do cerebelo são distintas daquelas com as regiões motoras do cerebelo, pois são derivadas do núcleo olivar principal que tem mínimo ou nenhum estímulo medular (SCHMAHMANN, 2019).

#### **1.2.4 Ações dos Agrotóxicos Sobre o Cerebelo**

Considerando os efeitos motores, tanto da cipermetrina quanto do diclorvós, observou-se a ação destes sobre as células cerebelares. A cipermetrina foi arrolada à redução de células de Purkinje e de células granulares, bem como à redução da atividade da acetilcolinesterase e do GABA, redução de enzimas antioxidantes e aumento do estresse oxidativo no cerebelo dos ratos expostos à cipermetrina por gavagem por quatro semanas (14,5 mg/kg /dia) (ELSAWY et al., 2017). O diclorvós foi relacionado à restrição dos mecanismos celulares responsáveis pela proteção à agressão oxidativa como redução da atividade de glutathione-S-transferase, catalase e de superóxido-dismutase, aumento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e redução de óxido nítrico no cerebelo. Também foi implicado em menor expressão de acetilcolinesterase, maior expressão

de BAX (antígeno pró-apoptótico), cromatólise das Células de Purkinje e maior infiltração celular em cerebelo de ratos expostos a 16mg/kg de diclorvós via gavagem em dose única (OCHIGBO et al., 2017).

## **2 JUSTIFICATIVA**

Considerando os efeitos neurotóxicos destas substâncias já demonstrados em estudos prévios, sendo poucos destes sobre as ações destas substâncias sobre o cerebelo, além de a frequente exposição inalatória de humanos a agrotóxicos e a ausência de estudos sobre os efeitos da exposição inalatória à cipermetrina ou ao diclorvós sobre cerebelo, se faz necessário avaliar o efeito isolado ou em associação destes dois agrotóxicos sobre a estrutura do cerebelo de ratos Wistar machos adultos expostos por via inalatória.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos da administração inalatória de cipermetrina e de diclorvós isolados e em associação, sobre a estrutura do cerebelo de ratos Wistar machos adultos.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- i) Avaliar se há alteração no percentual de área ocupada pela camada molecular e pela camada granular dos animais expostos;
- ii) Avaliar a densidade linear das células de Purkinje dos animais expostos;
- iii) Avaliar se há alteração na área nuclear das células de Purkinje dos animais expostos;
- iv) Avaliar se há alteração na densidade celular da camada molecular dos animais expostos;
- v) Avaliar se há alteração na densidade celular da camada granular dos animais expostos;
- vi) Investigar a presença de alterações histopatológicas nos cerebelos dos animais expostos.

#### **4 HIPÓTESES**

*Hipótese alternativa:*

Há alteração na estrutura do cerebelo dos animais expostos aos agrotóxicos cipermetrina, diclorvós e a associação deles por via inalatória.

*Hipótese nula:*

Não há alteração na estrutura do cerebelo dos animais expostos aos agrotóxicos cipermetrina, diclorvós e a associação deles por via inalatória.

## 6 CONCLUSÃO

Neste estudo, demonstrou-se que os pesticidas diclorvós e cipermetrina isoladamente ou em associação, quando administrados subcronicamente e via inalatória, alteraram a estrutura do cerebelo de ratos Wistar. O uso de diclorvós isoladamente e associado com cipermetrina diminuiu a área nuclear de células de Purkinje e aumentou a densidade de células de Purkinje, além de aumentar a densidade das células da camada granular e da camada molecular. Além disso, os animais expostos à cipermetrina apresentaram diminuição da área nuclear das células de Purkinje. O aumento das densidades celulares está associado à redução do tamanho das células cerebelares específicas de cada camada e/ou à redução do neuropilo cerebelar.

É necessário que os efeitos do uso agudo e crônico dos agrotóxicos sejam elucidados por meio de estudos com animais incluindo machos e fêmeas expostos de forma inalatória a essas substâncias, representando com maior fidelidade a exposição usual humana aos agrotóxicos, utilizando avaliações morfológicas, funcionais e comportamentais a fim de compreender as possíveis consequências do uso crônico delas aos humanos.

## REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 294, de 29 de julho de 2019. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 146, p. 78-85, 31 de junho de 2019. Disponível online em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-294-de-29-de-julho-de-2019-207941987>. Acesso em: 08 abr. 2022.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **C10- Cipermetrina**. 2020a. Disponível online em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4223json-file-1>. Acesso em: 08 abr. 2022.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **D13- Diclorvós**. Publicado em 22 de outubro de 2020b. Disponível online em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/d/4277json-file-1>. Acesso em: 08 abr. 2021.

BADURA, A., et al. Normal cognitive and social development require posterior cerebellar activity. **eLife**. 7:e36401. 2018. Disponível online em: <https://doi.org/10.7554/eLife.36401>. Acesso em: 24 mai. 2022.

BASSANI, D., et al. Pesticides in Brazil: A Viewpoint about the Poison Law. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n.46, p. 12153–12154, 2018. Disponível online em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05669>. Acesso em: 11 abr. 2022.

BINUKUMAR, B.K., et al. Nigrostriatal neuronal death following chronic dichlorvos exposure: crosstalk between mitochondrial impairments,  $\alpha$  synuclein aggregation, oxidative damage and behavioral changes. **Molecular Brain**. v.3, p.35, 2010. Disponível online em: <https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-35>. Acesso em: 27 mai. 2021.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, [...]. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 127, n. 131, p. 11459, 1989. Disponível online em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm). Acesso em: 08 abr. 2022.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Projeto de Lei nº 6299, de 13 de março de 2002. Altera artigos 3º e 9º da Lei nº 7802/89 que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, [...] e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília: **Senado Federal**, 2002a. Disponível online em: [https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop\\_mostrarintegra?codteor=1669849](https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1669849). Acesso em: 08 abr. 2022.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, [...] e a fiscalização de



agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 139, n. 5, p. 1-12, 8 jan. 2002b.

CARNEIRO, F. F., et al. Segurança Alimentar e nutricional e saúde. Parte 1. In Carneiro, Fernando Ferreira et al. (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015. Disponível online em: [https://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wp-content/uploads/2013/10/DossieAbrasco\\_2015\\_web.pdf](https://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wp-content/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf). Acesso em: 19 abr. 2022.

Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT-RS). **Relatório Anual de Atendimento – 2019**. Publicado em junho de 2020. Disponível online em [https://drive.google.com/file/d/1bA49pURLLZeGRxk4vkCQbXjZ\\_OttTRIH/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1bA49pURLLZeGRxk4vkCQbXjZ_OttTRIH/view?usp=sharing). Acesso em: 20 abr. 2022.

CUNHA, E. O., et al. Ototoxicity of cypermethrin in Wistar rats. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 86, n.5, p. 587-592, 2020., 86(5), 587–592. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.02.007>. Acesso em: 09 jun. 2022.

D'ANGELO, E. Physiology of the cerebellum. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 154, p. 85–108, 2018. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63956-1.00006-0>. Acesso em: 14 jun. 2022.

DALMOLIN, S. P., et al. Biomarkers of occupational exposure to pesticides: Systematic review of insecticides. **Environmental toxicology and pharmacology**, n. 75, 103304, 2020. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103304>. Acesso em: 28 jun. 2022.

DRAKE, R. L., et al. Parte IV: Cerebelo in **Gray's anatomia para estudantes**. 4. ed. Rio de Janeiro: GEN | Grupo Editorial Nacional S.A. p. 49a-54a, 2021.

ELSAWY, H., et al. Protective effect of  $\alpha$ -lipoic acid against  $\alpha$ -cypermethrin-induced changes in rat cerebellum. **Journal of chemical neuroanatomy**, 86, 52–58, 2017.

FARIA, N. M. X., DA ROSA, J. A. R. & FACCHINI, L. A. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 335-44, 2009. Disponível online em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102009005000014>. Acesso em: 17 mar. 2022.

GARTNER, L. P. Tecido Nervoso. In: **Tratado de Histologia**, 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.175-208, 2022.

GREWAL, K. K. et al. Toxic impacts of cypermethrin on behavior and histology of certain tissues of albino rats. **Toxicology international**, v.17, n.2, p. 94–98, 2010. Disponível online em: <https://doi.org/10.4103/0971-6580.72679>. Acesso em: 27 mai. 2021.

GUELL, X. & SCHMAHMANN, J. Cerebellar Functional Anatomy: a Didactic Summary Based on Human fMRI Evidence. **Cerebellum**, v. 19, p. 1–5, 2020. Disponível online em: <https://doi.org/10.1007/s12311-019-01083-9>. Acesso em: 23 mai 2022.

HAMRE, K. M. & WEST, J. R. The effects of the timing of ethanol exposure during the brain growth spurt on the number of cerebellar Purkinje and granule cell nuclear profiles. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 17, n. 3, p. 610-622, 1993.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Ambiente, trabalho e câncer: aspectos epidemiológicos, toxicológicos e regulatórios / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **INCA**, 2021. Disponível online em: [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/05/1179334/ambiente\\_trabalho\\_e\\_cancer\\_-\\_aspectos\\_epidemiologicos\\_toxicolo\\_6sBSmac.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/05/1179334/ambiente_trabalho_e_cancer_-_aspectos_epidemiologicos_toxicolo_6sBSmac.pdf). Acesso em: 08 abr. 2022.

JUNQUEIRA, L. C. U. & CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KAPELEKA, J. A., et al. Changing Patterns and Drivers of Increased Pesticides Use in Smallholder Vegetable Production Systems in Tanzania. **BioRxiv**, 2021. Disponível online em: <https://doi.org/10.1101/2021.01.18.427098>. Acesso em: 02 mar. 2022.

KANBUR, M., et al. The toxic effect of cypermethrin, amitraz and combinations of cypermethrin-amitraz in rats. **Environmental science and pollution research international**, v. 23, n.6, p. 5232-42, 2016. Disponível online em: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5720-z>. Acesso em: 13 abr. 2022.

KOBAYASHI, H., et al. Effects of acute and chronic administration of DDVP (dichlorvos) on distribution of brain acetylcholine in rats. **The Journal of Toxicological Science**, v.5, n. 4, p. 311- 319, 1980. Disponível online em: <https://doi.org/10.2131/jts.5.311>. Acesso em: 01 jun. 2021.

KOEPPEN, A. H. The neuropathology of the adult cerebellum. **Handbook of clinical neurology**, n. 154, p. 129–149, 2018. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63956-1.00008-4>. Acesso em: 18 mai. 2022.

LIANG, Y., et al. Fatal poisoning by terbufos following occupational exposure. **Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)**, v. 56, n.2, p. 140–142, 2018. Disponível online em: <https://doi.org/10.1080/15563650.2017.1340647>. Acesso em: 19 mai. 2022.

LINARES, C. E. B., et al. Níveis Basais de Acetilcolinesterase e Butirilcolinesterase em Agricultores da Região de Frederico Westphalen – RS. **Saúde**, v. 31, n.1 e 2, p. 47–51, 2005. Disponível online em: <https://doi.org/10.5902/223658346408>. Acesso em: 10 mar. 2022.

MACEDO, M. B., et al. Morphometric Evaluation of the Recurrent Laryngeal Nerve of Wistar Rats Exposed to Pesticides. **Journal of voice: official journal of the Voice Foundation**, S0892-1997: 00328-3, 2021. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.jvoice.2021.09.028>. Acesso em: 30 jun. 2022.

MALYSZ, T., et al. Cerebelo. Em: JOTZ, G., et al. **Neuroanatomia Clínica e Funcional**, 1a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.116-127, 2017.

MARIËN, P., & BORGATTI, R. Language and the cerebellum. **Handbook of clinical neurology**, v. 154, p. 181–202, 2018. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63956-1.00011-4>. Acesso em: 08 jun 2022.

MOHAMMADI, H., et al. Pyrethroid exposure and neurotoxicity: a mechanistic approach. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**. v.70, n.2, p.74-89, 2019. Disponível online em: <https://doi.org/10.2478/aiht-2019-70-3263>. Acesso em: 01 jun. 2021.

NWANKWO, R. C., et al. Biochemical and histopathological effects of sub-acute exposure of albino rats to fumigants - dichlorvos and cypermethrin. **Interdisciplinar**

**Toxicology**, v.12, n.4, p.180-185, 2019. Disponível online em: <https://doi.org/10.2478/intox-2019-0022>. Acesso em: 27 mai. 2021.

OCHIGBO, G. O., et al. Polyphenol-rich fraction of *Parquetina nigrescens* mitigates dichlorvos-induced neurotoxicity and apoptosis. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 8, n.1, p. 27-36, 2017. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2016.09.002>. Acesso em: 27 mai. 2021.

OECD. Test No. 413: Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study, **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 4, OECD Publishing, Paris. 2009.

OVALLE, W. K. & NAHIRNEY, P. C. Tecido Nervoso Em: **Netter Bases da Histologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 120- 121, 2014.

RANGARAJU, S., & WEBB, A. Status epilepticus following inhalational exposure to bifenthrin, a Type II pyrethroid. **Clinical toxicology**, v. 51, v.9, p. 906, 2013. Disponível online em: <https://doi.org/10.3109/15563650.2013.824581>. Acesso em: 19 mai. 2022.

RIBEIRO, L.F.C., et al. **Tecido nervoso**, 2016. Disponível online em: [https://projetos.unioeste.br/projetos/microscopio/index.php?option=com\\_phocagallery&view=category&id=84:cerebelo&Itemid=139#:~:text=%C3%89%20formado%20por%20dois%20hemisf%C3%A9rios,fissuras%2C%20aos%20sulcos%20do%20telenc%C3%A9falo](https://projetos.unioeste.br/projetos/microscopio/index.php?option=com_phocagallery&view=category&id=84:cerebelo&Itemid=139#:~:text=%C3%89%20formado%20por%20dois%20hemisf%C3%A9rios,fissuras%2C%20aos%20sulcos%20do%20telenc%C3%A9falo). Acesso em: 26 mai. 2022.

ROUX, S., BAILLY, Y., & BOSSU, J. L. Regional and sex-dependent alterations in Purkinje cell density in the valproate mouse model of autism. **NeuroReport**, n. 30, v. 2, p. 82–88. 2019. Disponível online em: <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001164>. Acesso em: 19 mai. 2022.

SANTANA, C. M. et al. Exposição ocupacional de trabalhadores rurais a agrotóxicos. **Caderno de saúde coletiva**, n. 24, v. 3, p. 301-307, 2016. Disponível online em: <https://doi.org/10.1590/1414-462X201600030199>. Acesso em: 12 mai. 2022.

SCHMAHMANN, J. D. The cerebellum and cognition. **Neuroscience letters**, n. 688, p. 62–75, 2019. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.07.005>. Acesso em: 02 jun. 2022.

SINGH, A. K., et al. A current review of cypermethrin-induced neurotoxicity and nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration. **Current Neuropharmacology**, n. 10, v.1, p.64-71, 2012. Disponível online em: <https://doi.org/10.2174/157015912799362779>. Acesso em: 21 mai 2021.

STOODLEY, C. J. The Cerebellum and Neurodevelopmental Disorders. **The Cerebellum**, n. 15, p. 34–37, 2016. Disponível online em: <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0715-3>. Acesso em: 15 mai. 2022.

TAVARES, E. M., JUDGE, B. S., & JONES, J. S. Bug off! Severe toxicity following inhalational exposure to N, N-diethyl-meta-toluamide (DEET). **The American journal of emergency medicine**, v. 37, n.7, p. 1395.e3–1395.e4, 2019. Disponível online em: <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2019.04.019>. Acesso em: 23 mar. 2022.

WAGNER, Mark J., et al. Cerebellar granule cells encode the expectation of reward. **Nature**, v. 544, n.7648, p. 96–100, 2017. Disponível online em: <https://doi.org/10.1038/nature21726>. Acesso em: 15 mai. 2022.

WAX, P. M., & HOFFMAN, R. S. Fatality Associated with Inhalation of a Pyrethrin Shampoo. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 32, n.4, p. 457–460, 1994.