



## BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO EM *Propimelodus eigenmanni* (VAN DER STIGCHEL, 1946) ORIUNDOS DE REGIÃO AMAZÔNICA COM HISTÓRICO DE CONTAMINAÇÃO POR ARSÊNIO

Danielle Regina Gomes Ribeiro - Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca (ICB-UFPA); danielle\_rgr@hotmail.com Carla Carolina Miranda dos Santos – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará (UFPA) Thaiane Santos da Silva – Faculdade de Oceanografia, Universidade Federal do Pará (UFPA) Johnata Azevedo Ferreira – Faculdade de Oceanografia, Universidade Federal do Pará (UFPA) Tamyris Pegado de Sousa e Silva – Faculdade de Oceanografia, Universidade Federal do Pará (UFPA) Ana Carolina da Silva Sousa – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará (UFPA) Sarita Nunes Loureiro – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará (UFPA) Juliane Ventura-Lima – ICB, Universidade Federal do Rio Grande (FURG) José Maria Monserrat – ICB, Universidade Federal do Rio Grande (FURG) José Luis Vieira – Laboratório de Toxicologia (UFPA) Roberto Messias Bezerra – Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) José Carlos Tavares Carvalho – Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) Lílian Lund Amado - Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aquática e Pesca (ICB-UFPA) ;

### INTRODUÇÃO

O ambiente aquático é o destino final de diversos poluentes e agentes químicos, sofrendo, portanto impacto direto ou indireto da ação antrópica. Muitos rios amazônicos são reportados por apresentarem uma elevada pressão antropogênica e vêm sofrendo grande contaminação ambiental, o que gera riscos aos seres humanos e aos organismos aquáticos (Padovani *et al.*, 1996; Santos *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 2007). Um caso de grande preocupação ocorre no município de Santana, região da Serra do Navio, estado do Amapá, onde rejeitos de manganês, ferro e arsênio foram armazenados em uma bacia de decantação e próximo dessa área encontram-se dois igarapés que drenam o local e direcionam-se para o rio Amazonas (Santos *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2009). O arsênio é um semimetal que possui formas biodisponíveis de grande efeito bioacumulativo e tóxico, sendo capazes de desativar centenas de enzimas envolvidas em diversos processos biológicos, ocasionando danos em vários sistemas celulares (Ventura-Lima *et al.*, 2007). Segundo Valavanidis *et al.* (2006) as defesas antioxidantes em sistemas biológicos podem ser utilizadas como biomarcadores de exposição para a detecção de efeitos precoces, gerados por condições ambientais estressantes, antes que tais efeitos atinjam níveis de organização biológica superiores como populações, comunidades e ecossistemas. O peixe *Propimelodus eigenmanni* (Van der Stigchel, 1946) pertence à família Pimelodidae, é encontrado na América do Sul sendo típico dos rios amazônicos associado intimamente com lama ou substrato, o que o torna um bom organismo biomonitor. A análise de biomarcadores de exposição em peixes é uma excelente ferramenta para monitorar a saúde do ecossistema aquático em nível biológico, principalmente devido sua posição chave nas cadeias tróficas.

### OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é avaliar, em nível biológico, o efeito da exposição *in situ* ao As utilizando como organismos biomonitor peixes *Propimelodus eigenmanni* residentes na região potencialmente impactada, comparando com as respostas de organismos da mesma espécie oriundos de regiões com menor histórico de contaminação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Local de Estudo: O local de estudo é a porção do Rio Amazonas que margeia a cidade de Santana (S2; AP - 00° 03' 13,3" S e 51° 11' 26,7" W) que apresenta histórico de contaminação por arsênio pela presença de uma indústria de beneficiamento de minérios. Para nível comparativo foram escolhidos 2 controles, um interno e outro externo. O controle interno foi o rio Beija-flor, na cidade de Mazagão (S1; AP - 00° 007' 23,8" S e 051°16' 53,4" W) que é um afluente do rio Amazonas e o controle externo o rio Abaeté na cidade de Abaetetuba (S3; PA - 01° 44' 09,1" S e 048° 53' 46,3"W), ambos sem histórico de contaminação direta por Arsênio. As coletas no Pará e Amapá foram realizadas em novembro de 2012, período seco na região. Os peixes *Propimelodus eigenmanni* foram capturados através da pesca com anzol, crioanestesiados e mortos por secção da medula. Os animais coletados foram imediatamente transportados para o laboratório sob gelo, onde foram pesados (peso total), medidos (comprimento total) e dissecados para a obtenção de fígado, brânquias, cérebro e músculo. Todas as amostras foram armazenadas a -86°C até as análises dos biomarcadores de exposição. Preparo das amostras: As amostras foram então homogeneizadas em diluições de 1:4(p/v) em tampão frio, centrifugadas (10.000 x g; 20 min; 4° C) e o sobrenadante foi utilizado para as dosagens. Como biomarcadores de exposição foram avaliadas as atividades das enzimas antioxidantes catalase - CAT em fígado e brânquias (segundo Bainy *et al.*, 1996) e glutathionas--transferase - GST nos 4 órgãos separados (segundo Habig *et al.*, 1974 e Habig e Jakoby, 1981). A análise de proteínas totais foi realizada com kit comercial (Doles Ltda, Brazil). Os dados obtidos foram testados para normalidade e homocedasticidade das variâncias utilizando-se os testes de Shapiro-Wilks e Levene, respectivamente. Quando necessário, para atingirem os pressupostos da ANOVA, os dados foram matematicamente transformados (log 10). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  erro padrão [n]. Diferenças significativas foram avaliadas por ANOVA de uma via, seguida do teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTADOS

Os pesos e comprimentos médios foram maiores ( $p < 0,05$ ) nos animais de S1 (30,91  $\pm$  3,06 g [26]; 19,18  $\pm$  0,71 cm [26], respectivamente) do que nos animais de S2 (16,06  $\pm$  0,79 g [7]; 15,2  $\pm$  0,31 cm [7], respectivamente) e S3 (17,97  $\pm$  1,03 g [12]; 16,23  $\pm$  0,16 cm [12]). As atividades das enzimas antioxidantes utilizadas como biomarcadores de exposição não se diferenciaram estatisticamente entre os organismos dos distintos ambientes ( $p > 0,05$ ) em nenhum dos órgãos analisados. No entanto, a atividade da GST (U GST/mg de proteínas) diferenciou-se ( $p < 0,05$ ) entre os 4 órgãos sendo maior no fígado, seguido de brânquias, cérebro e, por fim, músculo. A atividade da CAT (U CAT/mg de proteínas) também foi estatisticamente superior ( $p < 0,05$ ) no fígado do que nas brânquias.

## DISCUSSÃO

A contaminação por As existente na região de Santana (Foz do Rio Amazonas, AP) tem sido estudada apenas no que diz respeito à saúde humana (Santos *et al.*, 2003) e a presença do seu conteúdo total no solo (Pereira *et al.*, 2009). Tais estudos caracterizam a região como sendo contaminada pelo metaloide. Este é o primeiro estudo a avaliar o efeito do As em organismos aquáticos e em baixo nível de organização biológica, o que possibilita a identificação de alterações nocivas de maneira precoce, possibilitando a tomada de atitudes antes de que tais efeitos atinjam populações, comunidades e ecossistemas. Enzimas antioxidantes têm sido utilizadas como biomarcadores de exposição não específicos em diversos estudos para avaliar a exposição de diferentes espécies de peixes a poluentes (Van der Oost *et al.*, 2003). No presente estudo avaliou-se a atividade das enzimas antioxidantes GST e CAT em diferentes órgãos do peixe *Propimelodus eigenmanni*. Nenhuma das enzimas analisadas em nenhum dos órgãos apresentou resposta diferenciada em quando se comparou animais coletados em ambientes com distintos históricos de contaminação por As. Outros autores verificaram resultados semelhantes em relação a essas enzimas (Van der Oost *et al.*, 2003) frente a outros tipos de poluentes. Tal resultado pode indicar que a contaminação presente no ambiente não é suficiente para alterar as atividades enzimáticas ou que os biomarcadores utilizados neste estudo

não são responsivos à esse tipo de poluente. A análise de outros biomarcadores de exposição e de efeito possibilitarão o esclarecimento desta questão. Em relação às diferentes atividades observadas nos distintos órgão analisados pode-se concluir que está relacionada à fisiologia de cada órgão. O fígado, como órgão de metabolização e detoxificação de xenobióticos, apresenta maior atividades de ambas enzimas antioxidantes avaliadas.

## CONCLUSÃO

É de suma importância o estudo de biomarcadores bioquímicos em organismos aquáticos na região de Santana (AP) para a caracterização do ambiente do ponto de vista biológico. Os biomarcadores de exposição avaliados neste estudo não se diferenciaram entre os ambientes com distintos históricos de contaminação por As, podendo significar a ausência de níveis de poluentes capazes de alterar a atividade das enzimas avaliadas ou falta de sensibilidade dos biomarcadores selecionados. A avaliação de outros biomarcadores de efeito e exposição se faz necessária para uma análise mais acurada da qualidade deste ambiente em nível biológico. (PIBIC/CNPQ; UNIVERSAL/CNPQ)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAINY, A. C.D.; SAITO, E.; CARVALHO, P. S. M.; JUNQUEIRA, V. B. C. 1996. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicology*. 34: 151-162.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. 1974. Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Biological Chemistry*. 249: 7130-7139.

HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. 1981. Assay for differentiation of glutathione-S-transferases. *Methods in Enzymology*. 77: 398-405.

LIMA, M. O.; FAIAL, K. F.; BRABO, E. S.; SANTOS, E. C. O.; ANGÉLICA, R. S.; MENDES, R. A.; CARNEIRO, B. S.; SÁ, L. L. C.; VALE, E. R.; JESUS, I. M. 2007. Avaliação de Arsênio Total, Elementos Traços e Bacteriológica em Águas de Consumo na Comunidade do Elesbão, Município de Santana, Estado do Amapá, Brasil. *Cadernos Saúde Coletiva*. 15: 467-482.

PADOVANI, C. R.; FORSBERG, B. R.; PIMENTEL, T. P. 1995. Contaminação mercurial em peixes do rio Madeira: resultados e recomendações para consumo humano. *Acta Amazonica*. 25: 127-136.

PEREIRA, S. F. P.; OLIVEIRA, G. R. F.; OLIVEIRA, J. S.; SILVA, J. S.; SOUSA JUNIOR, P. M. 2009. Determinação espectrofotométrica do arsênio em solo da cidade de Santana-AP usando o método do dietilditiocarbamato de prata (SDDC) modificado. *Acta Amazônica*. 39: 953-960.

SANTOS E. C. O.; JESUS I. M.; BRABO E. S.; FAYAL K. F.; SÁ-FILHO G. C.; LIMA, M. O.; MIRANDA A. M. M.; MASCARENHAS A. S.; SÁ L. L. C.; SILVA A. P.; CÂMARA V. M. 2003. Exposição ao mercúrio e ao arsênio em Estados da Amazônia. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. 6: 171-185.

VALAVANIDIS, A.; VLAHOGIANNI, T.; DASSENAKIS, M.; SCOULLOS, M. 2005. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 64: 178-189.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13: 57-149.

VENTURA-LIMA, J.; SANDRINI, J. Z.; FERREIRA-CRAVO, M.; PIEDRAS, F. R.; MORAES, T. B.;

FATTORINI, D.; NOTTI, A.; REGOLI, F.; GERACITANO, L. A.; MARINS, L. F. F.; MONSERRAT, J. M. 2007. Toxicological responses in *Laeonereis acuta* (Annelida, polychaeta) after arsenic exposure. *Environment International*. 33: 559-564.