

## **Aplicação de biomarcadores de exposição para avaliação de risco ecológico na Baía da Ribeira, Angra dos Reis, RJ.**

Ramos, A. S. (aramos@cetem.gov.br); Rodrigues, A. P. C.; Muniz, K. P. M. S.; Pedroso, L. R.; Maciel, P. O.; Calvancati, L. C. P. S.; Gonçalves, M.V.C; Longo, M. M; Meurer, B.C.; Absolon, B.A; Manzano, F.; Teixeira, D. E.; Freret, N. V.; Almosny, N.; Andreato, J. V.; Bidone, E. D.; Castilhos, Z. C; Viana, T. A. P.; de Albuquerque, C.; Inácio, A. F. ; Novo, L. A.; Linde, A. R.

### **Introdução**

Em ecossistemas aquáticos, o mercúrio participa de múltiplas reações, sendo a metilação responsável pela formação do metilmercúrio (MeHg), que entra na cadeia alimentar, atingindo peixes e outros organismos do topo cadeia. Os bagres marinhos da família Ariidae são peixes de importância comercial relativamente alta e apresentam hábito alimentar variado, ingerindo desde moluscos a pequenos peixes. A cocoroca (*Haemulon steindachneri*) pertence à família Haemulidae e é um peixe carnívoro, alimentando-se de vermes, moluscos, crustáceos e peixes pequenos ([www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)). Para avaliação de risco ecológico são utilizados biomarcadores de exposição como hemogramas e estimativa da atividade enzimática (acetilcolinesterase). A dosagem de enzimas como acetilcolinesterase (AChE) tem sido utilizada como biomarcador de efeito para exposição a compostos persistentes no meio ambiente, tem como função clivar as moléculas de acetilcolina, que são responsáveis pela condução do impulso nervoso nas junções sinápticas.

### **Objetivos**

O objetivo desse trabalho foi avaliar o risco ecológico representado pelo mercúrio na Baía da Ribeira, através da utilização de biomarcadores de exposição (hemograma e atividade de colinesterases).

### **Materiais e métodos**

Coleta: Foram realizadas 10 coletas de campo em cinco estações, entre os meses de setembro de 2003 e maio de 2005, onde foram coletados bagres das espécies *Genidens genidens*, *Sciadeichthys luniscutis* e *Cathorops spixii* e cocorocas (*Haemulon steindachneri*). Análise de Hg total: As amostras de músculo dos peixes coletados foram homogeneizadas, sendo posteriormente introduzidas em um espectrofotômetro de absorção atômica portátil – LUMEX (RA – 915+) acoplado a uma câmara de pirólise. Dosagem de acetilcolinesterase: A determinação das atividades da acetilcolinesterase (AChE) (Oliveira Silva, 2000) foi baseada em Ellman (1961), sendo analisadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV 1601 (? = 412 nm). Hemograma: O hemograma foi determinado como sugerido por Almosny et al (1993), no qual todos os tipos celulares estão presentes na câmara de Neubauer. Análises estatísticas: Foram realizadas com o auxílio do programa SPSS. Foram investigadas correlações e realizados testes t-student e Mann-Whitney U para diferenciar os pontos de coleta e os resultados encontrados para as diferentes espécies. Teste de Micronúcleo: Foram feitos esfregaços de sangue fresco em lâminas lisas durante as coletas. As lâminas foram fixadas em metanol e coradas em Giemsa para a visualização no microscópio óptico. Foram contadas 1000 células por amostra.

### **Resultados**

Os valores médios encontrados para tamanho (mm), peso (g), Hg total (ng/g) no músculo (HgM), Hg total no sangue (HgSt), Hg total nas hemácias (HgHe), Hg total no plasma (HgPl), acetilcolinesterase (AChE -  $\mu$ moles/min.mg), micronúcleo (MN), núcleo bilobado (NB), hematimetria (H), leucometria (L), hematócrito (Ht %), proteína (P) estão apresentados a seguir por espécie, com o número de espécimes coletados em parênteses. Para *G. genidens*: tamanho-151,9 $\pm$ 55,9(84); peso-34,7 $\pm$ 46,0(80); HgM-90,8 $\pm$ 87,7(74); HgSt-34,2 $\pm$ 36,7(11); HgHe-46,2 $\pm$ 30,1(7); HgPl-14,8 $\pm$ 9,8(7); AChE-0,26 $\pm$ 0,16(6); MN-0,5 $\pm$ 0,5(8); NB-0,6 $\pm$ 1,1(8); H-944285,7 $\pm$ 147744,9(7); L-77714,3 $\pm$ 44142,6(7); Ht-31,3 $\pm$ 4,6(7); P-4,2 $\pm$ 0,4(5). Para *S. luniscutis*:

tamanho-246,7±53,0(24); peso-175,8±93,7(24); HgM-167,1±71,7(17); HgSt-35,3±17,2(19); HgHe-93,2±88,0(4); HgPH-11,3±7,4(4); AChE-0,16±0,11(16); MN-0,8±1,2(18); NB-0,2±0,5(18); H-1386000,0±425064,7(5); L-336000,0±305990,2(5); Ht-34,0±7,1(7); P-4,6±1,4(5). Para *C. spixii*: tamanho-172,0±83,9(7); peso-82,6±73,3(7); HgM-124,8±37,1(5); HgSt-22,4±9,1(6); HgHe-75,5(1); AChE-0,25±0,13(5); MN-0,0±0,0(6); NB-0,5±0,8(6). Para *H. steindachneri*: tamanho-197,5±28,9(25); peso-106,0±31,6 (25); HgM-407,6±228,3(12); HgSt-31,1±7,1(10); H-1435714,3±463603,9(7); L-421428,6± 211142,0 (7); Ht-30,8±8,6(9); P-4,9±0,8(9). Foram investigadas diferenças através dos testes t-Student e Mann-Whitney U entre os peixes em relação à concentração de Hg no músculo, sendo as cocorocas diferentes de todos os outros peixes (bagres e corvinas). Entre os bagres, somente o *S. luniscutis* é igual ao *C. spixii* e as corvinas iguais ao *G. genidens*. Como a AChE somente foi dosada em bagres, foi investigada diferença apenas entre as atividades apresentadas pelos bagres. O teste Mann-Whitney U demonstrou que são todos iguais. Com relação ao MN em bagres, pelo teste Mann-Whitney U, são todos iguais, exceto *G. genidens* e *C. spixii*, que são diferentes um do outro. Para NB, todos os bagres são iguais. Para investigação de diferenças das concentrações de HgT entre as estações de coleta dos peixes foram utilizados espécimes de *G. genidens* (única espécie coletada em todas as estações). Pelo teste tstudent, estação 1 é diferente da estação 3. Foram investigadas diferenças também para *S. luniscutis*, sendo todas as estações (1, 2 e 3) iguais. Foram investigadas correlações entre as variáveis estudadas para todas as espécies. Para a espécie *H. steindachneri* foi encontrada correlação entre leucometria e HgSt (-0,85; p<0,05; n=7), o que sugere a diminuição no número de leucócitos devido a uma maior exposição ao mercúrio. Para *Genidens genidens* foram encontradas correlação entre HgSt e HgM (0,82; p<0,05; n=7) e HgHe e HgM (0,96; p<0,001; n=7). Ambas abrem a possibilidade da utilização do sangue de peixes como matriz para a avaliação de contaminação por mercúrio no músculo, a exemplo do realizado para avaliar a intoxicação por mercúrio em humanos. Para *Sciadeichthys luniscutis* foram encontradas correlações entre MN e AChE (-0,51; p<0,05; n=16), indicando que a medida que concentração de Hg aumenta e a atividade da acetilcolinesterase diminui, o número de micronúcleo aumenta. Para *Cathorops spixi*, foi encontrada correlação entre AChE e HgSt (-0,90; p< 0,05; n=5), indicando que uma menor atividade enzimática com o aumento da exposição por Hg.

### Conclusão

As concentrações de HgM encontradas nos bagres pode ser considerada como de referência (abaixo de 100 ng/g). A correlação encontrada entre HgM e HgSt/HgHe possibilita o uso do sangue para prever a concentração de HgM. Os biomarcadores utilizados apresentaram correlações com os níveis de Hg, tanto em sangue quanto em músculo, sugerindo uma influencia desse metal no comportamento dos mesmos.

### Referências Bibliográficas

- Almosny, NrP et al. (1993) Hemograma De Aves: Métodos. VI Congresso Internacional De Medicina Veterinária Em Língua Portuguesa, Salvador, BA.
- Elmann, G. L.; Courtney, K.; Andres, Jr A.; Featherstone, R. (1961) A New And rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol*, 7: 89-95.
- Oliveira-Silva, J. J.; Alves, S. R.; Inácio, A. F.; Meyer, A.; Sarcinelli, P. N.; Ferreira, M. F.; Cunha, J. C.; Moreira, J. C. (2000) Cholinesterase activities determination in frozen blood samples: An improvement to the occupational monitoring in developing countries. *Hum. Exp. Toxicol.*, 19 (3): 173-177.