

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO IBUPROFENO E SEUS METABÓLITOS DEGRADADOS POR FUNGOS FILAMENTOSOS UTILIZANDO O PEIXE *Danio rerio* COMO MODELO EXPERIMENTAL.

Luani C. M. de Oliveira¹; Beatriz L. Ferreira²; Adriana M. Ferreira³; Irlon M. Ferreira⁴

¹Universidade Federal do Amapá – luanicristina2000@gmail.com

²Universidade Federal do Amapá – beatriz.ap@gmail.com

³Universidade Federal do Amapá – adrianmaciel@gmail.com

⁴Universidade Federal do Amapá – irlon.ferreira@gmail.com

Palavras-Chave: Ecotoxicologia; contaminantes farmacêuticos; peixe-zebra.

Introdução

Os medicamentos estão em constante evolução, facilitando sua aquisição para aliviar incômodos à saúde da humanidade. Contudo, a automedicação tornou-se descontrolada em alguns aspectos, principalmente dos rejeitos indesejáveis provenientes de medicamentos. Quando descartados incorretamente, esses resíduos são nocivos tanto à saúde humana quanto ao meio ambiente (Kummerer, 2009). Atualmente, os problemas ambientais e suas consequências sobre a qualidade de vida têm fomentado diversas discussões, buscando alternativas para o descarte correto de medicamentos, com o objetivo de garantir a efetividade e segurança no tratamento de efluentes que contenham esses resíduos (Gómez, 2022).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) estão entre os medicamentos mais utilizados no mundo (Smith e Jones, 2023). Dessa forma, são prescritos como uma categoria de fármacos utilizados no tratamento de processos reumáticos, como osteoartrite, artrite reumatoide e reumatismo articular, além de distúrbios musculoesqueléticos. Utilizados para alívio de sintomas de dor e febre recorrentes de processos inflamatórios (Johnson et al., 2023). Esses fármacos incluem o ibuprofeno e outros agentes, como o paracetamol e o diclofenaco, que agem como inibidores das enzimas ciclooxigenases (COX).

A biodegradação é considerada o processo mais importante para a eliminação da maioria das substâncias xenobióticas orgânicas, incluindo os medicamentos. Assim, é um método eficaz na degradação de substâncias orgânicas, incluindo produtos farmacêuticos (Miller e Thompson, 2023). Devido à alta demanda por elucidação das rotas metabólicas dos fármacos anti-inflamatórios não esteroidais, especialmente do ibuprofeno, combinados com outros xenobióticos sintéticos ou naturais, a biodegradação de medicamentos surge como uma alternativa promissora frente a outros métodos (químicos e físicos). Além disso, trata-se de um processo economicamente viável e ambientalmente aceitável, pois envolve processos biodegradáveis de fácil manipulação.

O peixe *Danio rerio*, conhecido popularmente como zebrafish, peixe-zebra, bandeirinha, entre variados nomes, é muito utilizado em pesquisas científicas para a avaliação toxicológica de substâncias orgânicas e inorgânicas (Martin e Wang, 2023). O peixe *D. rerio* possui cerca de 70% de similaridade genética com o genoma humano, o que o torna um modelo animal com grande potencial para estudos de avaliação toxicológica ambiental de fármacos e seus produtos de biodegradação (Schmidt e Lee, 2023). A toxicidade pode ser relacionada aos danos que essas substâncias orgânicas causam aos organismos com os quais entram em contato. Portanto, a presença de substâncias químicas nos ecossistemas aquáticos é considerada preocupante

(Brown e Carter, 2023), pois são capazes de interferir nas funções dos organismos aquáticos, causando impactos negativos em seus processos vitais.

Material e Métodos

Os animais são provenientes da Piscicultura Power Fish, located in Itaguaí-RJ, Brazil. Utilizou-se os peixes de ambos os sexos, com idade entre 8 meses e 2 anos, de linhagem AB selvagem, os animais foram mantidos em água, sob controle de temperatura ($23 \pm$ dois $^{\circ}\text{C}$), alimentação e ciclo claro/escuro, acondicionados em aquários na Laboratório de Ictio e Genotoxicidade da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Este estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNIFAP (Brasil) sob o número de 019/2022.

O teste seguiu as recomendações baseadas na Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) 236, com algumas adaptações. Foi realizado o acondicionamento (pelo menos 12 horas) de dez grupos de animais, cada grupo composto por dois machos e uma fêmea, mantidos separados por uma divisória de vidro transparente, identificados como aquário de reprodução, onde os ovos são capturados no fundo para evitar o canibalismo. Após o período de pernoite, as luminárias foram acesas, simulando o amanhecer (estímulo luminoso), a fim de incitar a postura, conforme a OECD (2013).

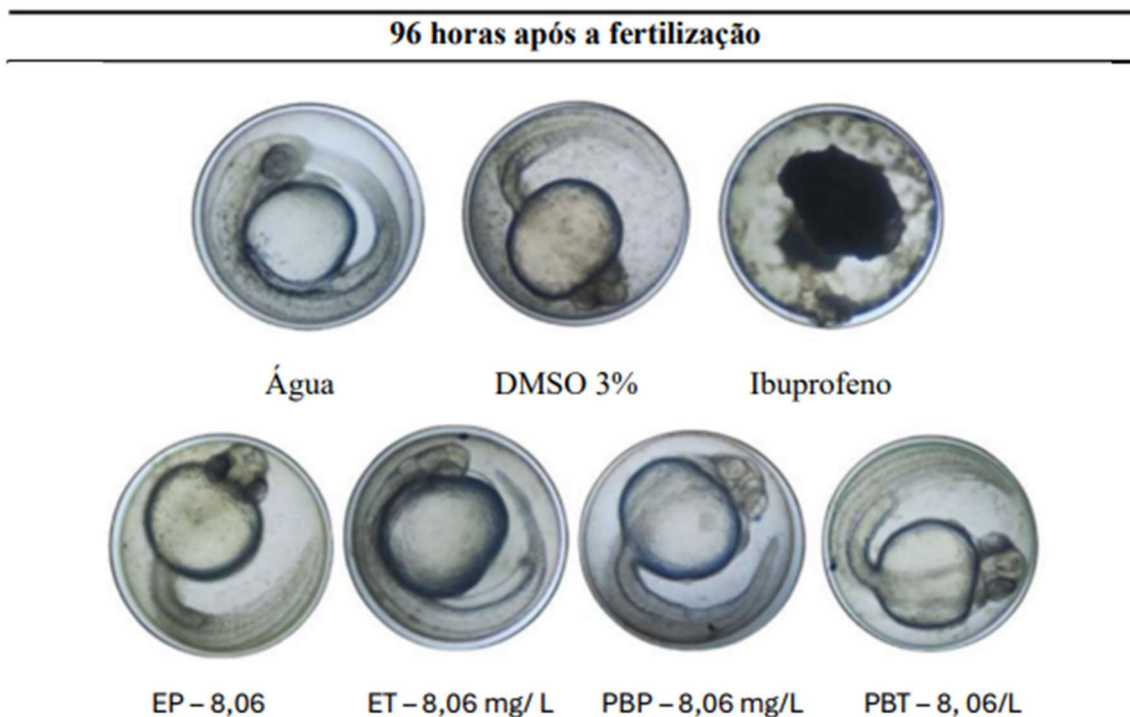
Segundo a metodologia descrita por Yang e colaboradores (2018), para evitar variações genéticas, optou-se por coletar ovos de no mínimo três grupos diferentes. Após a coleta, os ovos foram lavados com água de aquário e randomizados. Para cada concentração, avaliou-se grupos de 15 embriões (em triplicata), totalizando 45 a 70 embriões por concentração, que foram transferidos para placas de 96 poços, onde ficaram em contato com as concentrações de $8,06 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. As concentrações avaliadas foram: água destilada (H_2O), dimetilsulfóxido 2% (DMSO), ibuprofeno comercial (IBU), produto de biodegradação do ibuprofeno por *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* (PBP), produto de biodegradação do ibuprofeno por *Trichoderma pseudoasperelloides* (PBT), extrato fúngico de *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* (EP) e extrato fúngico de *Trichoderma pseudoasperelloides* (ET), seguindo a metodologia descrita por Ferreira et al. (2023) e Marinho et al. (2023). O estudo da toxicidade foi realizado entre 24 a 96 horas para avaliação toxicológica, utilizando microscópio para identificação de alterações presentes.

Resultados e Discussão

Foi utilizada uma única concentração de $8,06 \text{ mg/L}$ para todas as amostras, diluídas em DMSO a 3%, incluindo ibuprofeno comercial, extrato fúngico de *Penicillium* sp. cf. *guaibinense* (EP), extrato fúngico de *Trichoderma pseudoasperelloides* (ET), produto da biodegradação do ibuprofeno utilizando o fungo *Penicillium* sp. (PBP), produto da biodegradação do ibuprofeno utilizando o fungo *Trichoderma* sp. (PBT) e, para os grupos controles, os embriões foram incubados em água com DMSO (3%). Para determinar a toxicidade, foram levadas em consideração condições letais relacionadas às alterações teratogênicas, mortalidade, presença de coagulação, eclosão, ausência de separação da cauda e desenvolvimento de somitos. Essas observações foram realizadas por meio de análise em microscópio óptico nas seguintes horas: 24 a 96 horas pós-fertilização (hpf) (OECD, 2013).

Evidenciou-se que, no grupo tratado com ibuprofeno comercial (**Figura 1**), não foi possível observar a formação do embrião, considerando assim o composto tóxico na concentração estudada (Chabchoubi et al., 2023).

Figura 1: Morfologia dos embriões de zebrafish na concentração de 8,06mg/L das soluções em estudo pós 24 hpf em comparação com os grupos controles, água e DMSO 3%.



A maior anomalia deformativa encontrada ao examinar a morfologia dos embriões após exposição nas substâncias estudadas foi o edema pericárdico encontrado no grupo do extrato fúngico *Trichoderma pseudoasperelloides* (Scopel et al., 2021) (**Figura 1**).

Conclusões

O estudo de toxicidade evidência que os extratos obtidos após a biodegradação de ibuprofeno não são nocivos aos embriões do zebrafish na concentração estudada, quando comparado ao ibuprofeno comercial que foi considerado tóxico. Portanto a pesquisa revela o potencial biotecnológico dos fungos de solo amazônico, elucidando a importância no emprego destas cepas na biocatálise, fomentando o uso de metodologias verdes capazes de aperfeiçoar a biodegradação de outros MEOs.

Agradecimentos

Agradecimentos a Universidade Federal do Amapá, através do Departamento de Extensão pelo apoio por meio do auxílio viagem e pelo Departamento de Ações Comunitárias e Estudantis pelo apoio de registro de crédito recebido.



Referências

- KÜMMERER, Klaus. **Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks**. 2. ed. Berlin: Springer, 2009.
- GÓMEZ, Antonio. **Environmental impacts and management of pharmaceutical residues: strategies for effective waste disposal**. *Environmental Science & Policy*, v. 125, p. 1-12, 2022.
- SMITH, John; JONES, Michael. **Global use and impact of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)**. *Journal of Clinical Medicine*, v. 12, n. 4, p. 567-579, 2023.
- JOHNSON, Timothy; SMITH, Robert; WILSON, Laura. **Non-steroidal anti-inflammatory drugs: uses in rheumatic disorders and musculoskeletal conditions**. *Clinical Rheumatology*, v. 42, n. 2, p. 345-359, 2023.
- MILLER, Jonathan; THOMPSON, Patricia. **Biodegradation of xenobiotic compounds: key processes for pharmaceutical removal**. *Environmental Science & Technology*, v. 57, n. 8, p. 1452-1463, 2023.
- MARTIN, Charles; WANG, Lian. **Danio rerio as a model organism in toxicology: applications and benefits**. *Toxicology Reports*, v. 10, p. 75-85, 2023.
- SCHMIDT, Amanda; LEE, James. **Danio rerio as a model for environmental toxicology: genetic similarities and applications**. *Journal of Environmental Toxicology*, v. 14, n. 3, p. 112-124, 2023.
- BROWN, Rachel; CARTER, Susan. **Impact of chemical pollutants on aquatic ecosystems: ecological consequences and organismal effects**. *Environmental Pollution*, v. 276, p. 116-128, 2023.
- CHENG, Shiu-Chung; CHANG, Ya-Chi; FAN CHIANG, Yu-Lin; CHIEN, Yu-Chun; CHENG, Meng; YANG, Chun-Hsiung et al. **First case of coronavirus disease 2019 (COVID-19) pneumonia in Taiwan**. *Journal of the Formosan Medical Association*, v. 119, p. 747-751, 2020. doi: 10.1016/j.jfma.2020.02.007.
- MARINHO, Vinícius Henrique da Silva; SILVA, Andrea Roberta da; LOUREIRO, Samir Almeida; SOUZA, Priscila de Lima; SANTOS, Victor Martins; NASCIMENTO, José Marlon Gomes; DOS SANTOS, Marivalda Maria; SILVA, Maria José Menezes da. **Nanoparticles from silk fibroin and Amazon oils: potential larvicidal activity and oviposition deterrence against Aedes aegypti**. *Industrial Crops and Products*, v. 203, 1 nov. 2023.
- CHABCHOUBI, Ines Ben; AYARI, Ali; KADRI, Abdelwahed; AYADI, Habib. **Short-term effects of various non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on Danio rerio embryos**. *MethodsX*, v. 10, 1 jan. 2023.
- SCOPEL, Charles Francisco Vargas; BORTOLATTO, Carlos Cezar; MACHADO, Evelyn Freitas; GOMES, Rodrigo; FAGUNDES, Daniel Francisco; GONÇALVES, Francisco; MACHADO, Viviane. **Bpa toxicity during development of zebrafish embryo**. *Brazilian Journal of Biology*, v. 81, n. 2, p. 437-447, 2021.