

Capacidade antioxidante em peixes como biomarcador da qualidade da água

Max Miller Bicudo dos Reis¹ (IC)*, Carlos Filipe Camillo Cotrim¹, Luciana de Souza Ondeí (PQ)¹, Fabrício Barreto Teresa (PQ)¹.

*maxbeak59@gmail.com

1: Universidade Estadual de Goiás - Câmpus de Ciências exatas e tecnológicas-Rodovia BR-153, 3105 –Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO, 75132-400. Tel:(62) 3328-1160.

Resumo: As enzimas antioxidantes são comumente utilizadas como biomarcadores, que podem ser definidos como respostas mensuráveis do organismo a alterações no ambiente. Os biomarcadores são ferramentas importantes para a avaliação da qualidade de ambientes aquáticos e a influência das alterações no ambiente sobre os organismos, pois indicam alterações do estado normal do meio. Sendo assim, a avaliação de enzimas antioxidantes em organismos aquáticos de ambientes com contaminantes é importante para avaliar possíveis efeitos da poluição sobre os animais. Dessa forma, a pesquisa objetivou avaliar a resposta antioxidante (biomarcadores) em peixes de um riacho que recebe efluentes industriais comparada a de um riacho não poluído, a fim de avaliar se as enzimas de estresse oxidativo podem prever variações do ambiente. As enzimas CAT e GPx, presentes no fígado, não demonstraram diferenças na atividade enzimática em nenhuma das condições ou períodos avaliados ($p > 0,05$). Quando analisada a enzima GPx, em brânquias, não foram obtidos resultados significativos em relação à condição de exposição. No entanto, houve efeito da estação, sendo maior no período da seca em ambos os riachos ($p < 0,05$). Os resultados obtidos confirmam o aumento da atividade da GPx durante o período da seca mostrando que, possivelmente, os organismos testes foram expostos a condições estressoras.

Palavras-chave: Catalase, Glutathione peroxidase, estresse oxidativo.

Introdução

As células, em condições normais, possuem moléculas responsáveis pela detoxificação celular, como as enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), que fazem parte do sistema de defesa do organismo. Quando ocorre o comprometimento das vias antioxidantes e/ou aumento de espécies oxidantes, gera-se um desequilíbrio chamado de estresse oxidativo, que pode causar danos a macromoléculas como proteínas, lipídios e DNA (BARREIROS et al., 2006; COGO et al., 2009).



As enzimas antioxidantes são comumente utilizadas como biomarcadores, que podem ser definidos como respostas mensuráveis do organismo a alterações no ambiente. Os biomarcadores são ferramentas importantes para a avaliação da qualidade de ambientes aquáticos e a influência das alterações no ambiente sobre os organismos, pois indicam alterações do estado normal do meio (ROVER JUNIOR et al., 2001).

Os ambientes aquáticos podem sofrer variações naturais como pH, temperatura, quantidade de oxigênio dissolvido na água e concentração de compostos nitrogenados tóxicos, que degradam progressivamente a qualidade físico-química da água (CHAPMAN; KRAMER et al., 1991), acarretando em mudanças nos aspectos biológicos dos organismos (BORKOVIC´ et al., 2005). Essas variações ambientais podem ser intensificadas em ambientes poluídos, como os que recebem efluentes industriais, podendo ocasionar o aumento do estresse oxidativo nos organismos. Sendo assim, a avaliação de enzimas antioxidantes em organismos aquáticos de ambientes com contaminantes é extremamente importante para avaliar possíveis efeitos da poluição sobre os animais.

Dessa forma, a pesquisa objetivou avaliar a resposta antioxidante (biomarcadores) em peixes de um riacho que recebe efluentes industriais comparada a de um riacho não poluído, correspondente a um trecho de nascente, a fim de avaliar se as enzimas de estresse oxidativo podem prever variações do ambiente.

Material e Métodos

Para avaliar o efeito da poluição sobre biomarcadores foram utilizados lambaris da espécie *Astyanax lacustris* (lambari do rabo amarelo), obtidos de um estabelecimento comercial especializado em comercialização de iscas vivas e peixes ornamentais e transportados de acordo com as recomendações para transporte de peixes. O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEG, com protocolo nº 004/2016.

Os lambaris foram colocados em viveiros de nylon, com 38cm de altura e 24cm de largura e introduzidos nos riachos. Para cada condição, trecho que recebe



efluentes industriais e de nascente foram depositados, respectivamente, 10 e 13 viveiros com nove peixes em cada. Cada viveiro constituiu um *pool* de amostra. Os peixes tinham comprimento médio de $6,15 \pm 0,71$ cm no riacho que recebe efluentes e $5,49 \pm 0,85$ cm na nascente. O período de exposição dos animais foi de aproximadamente 72 horas e, durante este período, os peixes não foram alimentados.

Para a coleta das amostras (sangue, fígados e brânquias) os animais foram anestesiados com eugenol diluído em água (200 μ L/1000 mL). O sangue foi coletado por meio de veno punção com seringa heparinizada e transferido para um microtubo. Os fígados e as brânquias foram retirados e congelados no campo em nitrogênio líquido e transferidos, no laboratório, para freezer -80°C.

As respostas antioxidantes foram avaliadas pela quantificação por espectrofotometria das enzimas CAT (BEUTLER, 1975) e GPx (SIES H. et al., 1979) em fígado e brânquia dos animais.

Para avaliar o efeito dos riachos (que recebe efluentes industriais e a nascente) e das estações em que as amostras foram coletadas (março e abril que corresponde à seca e julho que corresponde à chuva) os valores de CAT e GPx foram comparados por meio da Análise de Variância Fatorial (Two-Way ANOVA).

Resultados e Discussão

Foi analisada a atividade enzimática em tecidos de fígado e brânquia de organismos bioindicadores (peixes) expostos ao córrego Barreiro que está localizado na reserva ecológica da Universidade Estadual de Goiás no Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, colocados em condições de meio potencialmente poluído e meio não poluído (nascente). Inicialmente, pretendia-se analisar os biomarcadores apenas em nível de condição ambiental, mas durante a execução do trabalho, notou-se que a exposição destes indicadores a diferentes tipos de estações (seca e chuva) também poderia acarretar em diferenças significativas na atividade enzimática dos biomarcadores. Portanto, foram feitas as análises levando-se em consideração a condição e a estação em que o organismo teste foi exposto.



Quando são realizados trabalhos utilizando biomarcadores bioquímicos de peixes para quantificação de alterações da biota aquática, é necessário saber que não existem padrões de referência para comparação. Logo, é necessário avaliar a atividade enzimática do organismo bioindicador perante cada condição (nascente e com efluentes) e estação (seca e chuva), sendo que quanto maior a atividade enzimática, possivelmente maior é o nível de estresse oxidativo que o organismo teste está sujeito (MARTINEZ, 2006).

As enzimas CAT e GPx, presentes no fígado, não demonstraram diferenças na atividade enzimática em nenhuma das condições ou dos períodos que foram expostos ($p > 0,05$). Isso pode ter ocorrido devido ao tempo de exposição (72 horas) que pode não ter sido suficiente para causar danos mensuráveis. Segundo o guia da Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) 203, o ideal é que os peixes sejam expostos por 96 horas. Além disso, pode-se supor que os animais expostos a meios potencialmente contaminados tiveram um comprometimento do metabolismo, afetando sua capacidade de induzir a atividade enzimática adequadamente (NOGUEIRA et al., 2010).

Quando analisada a enzima GPx, em brânquias, não foram obtidos resultados significativos em relação à condição de exposição. No entanto, houve efeito da estação, sendo a atividade enzimática maior no período da seca em ambos os riachos ($p < 0,05$), conforme apresentado na Figura 1. Isso pode ter ocorrido devido as brânquias possuírem uma grande superfície de contato com o meio, sendo de grande importância na primeira resposta de defesa frente a compostos complexos (SIMONATO; GUEDES; MARTINEZ, 2008).

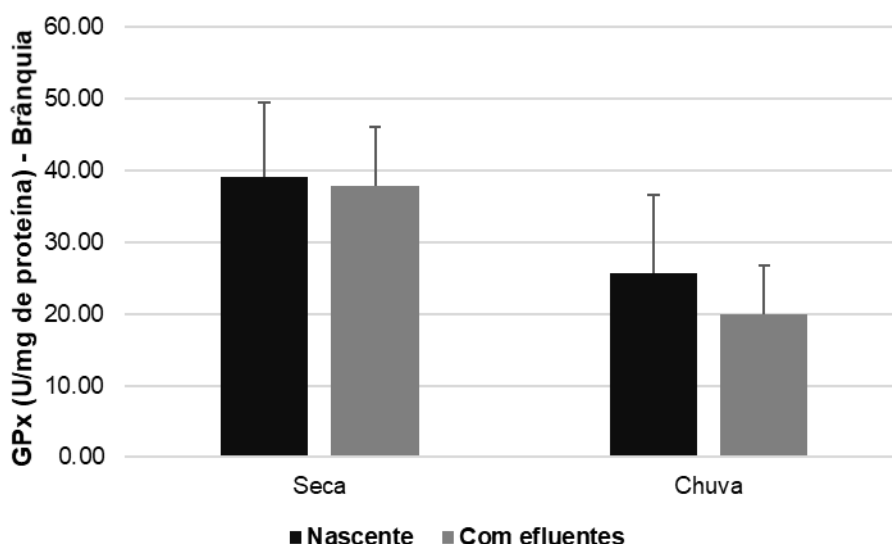


Figura 1: Atividade da GPx em brânquia de *Astyanax lacustris*.

Considerações Finais

De acordo com os resultados obtidos, a condição em que o peixe foi exposto não gerou diferença significativa com relação à atividade enzimática. No entanto, quando avaliada a estação, foram obtidos resultados que confirmam o aumento da atividade da GPx durante o período da seca mostrando que, possivelmente, os organismos testes foram expostos a condições estressoras.

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Luciana de Souza Onde, pelo profissionalismo e pelo suporte em todas as atividades relacionadas à pesquisa, por meio de orientações e correções; aos meus companheiros de pesquisa, pelo suporte mútuo em atividades laboratoriais e de campo, especialmente a Felipe José Silva Xavier, Suellem Santana Ribeiro, Naiane Ester Rezende Cruz Malagoli, Saulo Fernando de Oliveira Afonso e Felipe Bonifácio de Souza. Agradeço também à Instituição e seu corpo docente, pela provisão de materiais e conhecimentos necessários à pesquisa.

REALIZAÇÃO



Referências

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-126, 2006.

BEUTLER E. Red cell metabolism: a manual of biochemical methods. **Annals of Internal Medicine**, v. 83, n. 6, p. 919, 1975.

BORKOVIC', S. S. et al. The activity of antioxidant defence enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic Sea. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 141, Part C 141, p. 366-374, 2005.

CHAPMAN, L. J.; KRAMER, D. L. Limnological observations of an intermittent tropical dry forest stream. **Hydrobiologia**. v. 226, n. 3, p. 153-16, 1991.

COGO, A. J. D. et al. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza online**.v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009.

MARTINEZ, C. B. R. Parâmetros bioquímicos de peixes para avaliação da qualidade da água. **Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, p. 43-62, 2006.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). **J Biol Chem**, v. 244, n. 22, p. 6049–55, 1969.

NOGUEIRA, L. et al. Oxidative stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and armored catfish (*Pterygoplichthys anisitsi*) exposed to diesel oil. *Environ Monit Assess*, no prelo.

OECD 203. Fish, Acute Toxicity Testing of Chemicals. OECD, 1992. p. 9. 203,17.7.1992.



ROVER JUNIOR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathiona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, Vol. 24, No. 1, 112-119, 2001.

SIES H. et al. Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. **FEBS Letters**, v. 103, p. 287–290, 1979.

SIMONATO, J. D.; GUEDES, C. L. B.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. *Ecotoxicol Environ Saf*, v. 69, n. 1, p. 112–20, 2008