

UM ESTUDO SOBRE A UTILIZAÇÃO DO SISTEMA TESTE DE *Allium cepa* PARA AVALIAR A CITOGENOTOXICIDADE DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS

JÉSSICA DA ROCHA ALENCAR BEZERRA DE HOLANDA¹; JÉSSICA TORRES
DOS SANTOS²; JÚLIA KAIANE PRATES DA SILVA²; MANOELA COLPES
VIEIRA²; VERA LUCIA BOBROWSKI³; MAURIZIO SILVEIRA QUADRO⁴

¹Professora DE do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí- IFPI e Mestranda
em Ciências Ambientais -UFPEL – jessica.rocha@ifpi.edu.br;

²Universidade Federal de Pelotas -UFPEL- jessica_jesantos@hotmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas -UFPEL- vera.bobrowski@gmail.com;

⁴Universidade Federal de Pelotas -UFPEL—mausq@hotmail.com;

1.INTRODUÇÃO

Os contaminantes emergentes, contaminantes de interesse emergente, ou até mesmo micro contaminantes, são as substâncias que apresentam-se dissolvidas nas matrizes aquáticas cujas concentrações não estão previstas nos instrumentos regulatórios ambientais, sobretudo são compostos químicos resultantes das atividades antropogênicas, como os produtos de higiene pessoal, fármacos de uso humano e animal, antissépticos, retardantes de chama, surfactantes, dentre outros (JAIME- URBINA & VERA -SOLANO, 2020). Conforme os mesmos autores, embora sejam liberados em pequenas quantidades no ambiente, com o passar do tempo, em virtude do seu uso intensivo e generalizado, estes compostos tendem a acumulação e podem provocar efeitos negativos nos ecossistemas.

Os produtos farmacêuticos, que compõem a classe de poluentes emergentes, constituem-se como gêneros de primeira necessidade e uma das principais preocupações em relação a essas substâncias são relacionadas ao fato de não serem completamente removidos através dos sistemas de tratamento convencionais, gerando questionamentos quanto aos seus impactos negativos na saúde humana e ecossistêmica (CARVALHO FILHO et al., 2015). Independentemente de sua predisposição de serem degradados, o seu uso e liberação constantes conferem a essas substâncias um comportamento de pseudo-persistência, ressaltando-se a necessidade de conhecer os seus efeitos em organismos não-alvo (MEZZELANI et al., 2019).

A ânsia por conhecer agentes que possuem a capacidade de reagir com o DNA com o propósito de garantir a qualidade ambiental conduziu ao desenvolvimento de vários ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade em uma ampla variedade de organismos (LEME E MARIN- MORALES, 2009).

Bioensaios vegetais possuem várias vantagens em relação aos ensaios animais e microbiológicos, uma vez que as plantas possuem semelhanças quanto à morfologia cromossômica quando comparadas com animais, bem como apresentam respostas semelhantes quando expostas a substâncias químicas (BHAT et al., 2019).

A cebola (*Allium cepa*) constitui-se como uma das espécies vegetais mais utilizadas em estudos de toxicidade e genotoxicidade, uma vez que permite a avaliação de diversos “endpoints”, como aberrações cromossômicas e

micronúcleos, fornecendo informações relevantes para avaliação dos mecanismos de ação dos agentes tóxicos sobre o material genético (efeitos clastogênicos ou aneugênicos) (GARCÍA-MEDINA et al., 2020).

Logo, o presente trabalho possui o objetivo de apresentar resultados obtidos por estudos que aplicaram o bioensaio de *Allium cepa* para avaliar a citogenotoxicidade dos produtos farmacêuticos, uma categoria de poluentes emergentes.

2.METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no formato de revisão sistemática, trazendo a abordagem de trabalhos que utilizaram o bioteste de *A. cepa* para avaliar os efeitos citogenotóxicos de produtos farmacêuticos. O site de buscas adotado nesta pesquisa foi o portal ScienceDirect, utilizando-se os termos “*Allium cepa*” and “Pharmaceuticals”. O critério para inclusão dos artigos na revisão baseou-se na leitura dos títulos e resumos e então foram selecionados dois artigos que enquadravam-se ao objetivo do presente trabalho.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados dois artigos para compor o presente trabalho, conforme são apresentados na tabela 1 a seguir:

Tabela 1: Artigos selecionados

Título	Autores	Periódico	Ano
Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the <i>Allium cepa</i> test	HERRERO et al.	Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis	2012
The relationship between cyto-genotoxic damage and oxidative stress produced by emerging pollutants on a bioindicator organism (<i>Allium cepa</i>): The carbamazepine case	GARCÍA-MEDINA et al.	Chemosphere	2020

Fonte: Próprio autor.

Embora o trabalho de HERRERO et al. (2012) tenha avaliado três contaminantes emergentes, o presente trabalho irá concentrar sua abordagem ao triclosan (TCS), uma substância antibacteriana que participa da composição de uma variedade de produtos de cuidados pessoais, como cosméticos e produtos de saúde, sendo detectado nos ecossistemas aquáticos e fluidos corporais. As concentrações de TCS foram estabelecidas (1, 5, 10 e 30 $\mu\text{g/L}^{-1}$) com base em estudos preliminares. Para o estudo de inibição do crescimento das raízes e

posterior cálculo da EC_{50} , os bulbos foram expostos por 72h as diferentes concentrações. Para o estudo dos parâmetros microscópios, os bulbos foram expostos por 48h às diferentes concentrações, sendo posteriormente avaliados os parâmetros de citotoxicidade, genotoxicidade através das aberrações cromossômicas observadas e a mutagenicidade foi avaliada a partir da frequência de micronúcleos. Os resultados mostraram a redução do comprimento radicular dependente da dose de TCS, obtendo-se uma EC_{50} para esse composto de $1,8 \mu M$. Quanto ao índice mitótico, apenas as concentrações de 10 e $30 \mu g/L^{-1}$ apresentaram diferença significativa, atuando de forma a reduzir o índice mitótico. Em relação às anormalidades cromossômicas observadas, o TCS causou viscosidade cromossômica e anáfases e telófases perturbadas, embora não tenham sido verificados micronúcleos. Os autores frisaram que cromossomos pegajosos são considerados alterações irreversíveis, conduzindo à morte celular e segregação cromossômica perturbada são relacionados a distúrbios no fuso mitótico. Os dados obtidos por este estudo reforçam a afirmativa de dano ao DNA ocasionado por TCS em outras espécies, e fornecem uma compreensão abrangente dos riscos deste compostos em organismos não- alvo. Por fim, ressaltou-se que plantas superiores devem ser utilizadas em sistemas- teste com o objetivo de conhecer o dano ambiental causado por contaminantes emergentes.

O trabalho de GARCÍA- MEDINA et al., (2020) utilizou o sistema teste de *Allium cepa* para avaliar os efeitos da carbamazepina (CBZ), um dos anticonvulsivantes mais detectados em corpos hídricos. Em tese, foram estudados os efeitos citogenotóxicos e sua possível relação com o estresse oxidativo produzido por concentrações ambientalmente realistas deste fármaco em *A. cepa*. Inicialmente, foi fixada a concentração $1 \mu g/L^{-1}$, por ser uma concentração ambiental realista deste composto, em seguida partir do conhecimento da concentração inibitória das raízes de *A. cepa* ($31,36 mg/L^{-1}$), foi traçada a segunda concentração, estabelecida pela relação de $1/1000 IC_{50}$ ($31,36 \mu g/L^{-1}$), também classificada como ambientalmente relevante, uma vez que valores próximos a este foram detectados em trabalhos de monitoramento de corpos hídricos. Foram avaliados os parâmetros de citotoxicidade, genotoxicidade e determinação do estresse oxidativo. O índice mitótico foi avaliado a partir da quantidade de células em divisão em relação a quantidade de células observadas, a genotoxicidade foi avaliada a partir do ensaio cometa e o estresse oxidativo foi determinado analisando-se proteínas carbonatadas (PCC), atividade da enzima catalase (CAT), níveis de lipoperoxidação (LPx) e hidroperóxidos (HPx).

Os resultados mostraram que a inibição do crescimento das raízes foi associada à redução do índice mitótico. A capacidade genotóxica da CBZ está relacionada à geração de estresse oxidativo, produzindo hidroperóxidos e proteínas oxidadas. O efeito citotóxico relacionou-se com o dano ao DNA. Conforme mencionado pelos autores, o estudo em questão contribuiu para a compreensão do mecanismo pelo qual a CBZ causa efeitos adversos em organismos não- alvo, como as plantas superiores, sendo capaz de adentrar nas raízes e gerar estresse oxidativo em células meristemáticas, causando também danos a moléculas biológicas, como lipídeos, proteínas e material genético, este último a depender da dose de exposição. Por fim, ressaltou-se que as respostas a agentes citogenotóxicos em plantas e mamíferos são regidos por processos semelhantes.

Conforme LEME & MARIN-MORALES (2009) os bioensaios de citogenotoxicidade realizados com plantas não devem ser descartados, uma vez que um produto químico capaz de provocar danos cromossômicos em plantas pode

oferecer riscos a outros grupos de organismos, uma vez que o alvo toxicológico é o DNA, comum a todos os organismos.

4. CONCLUSÕES

Produtos farmacêuticos são considerados contaminantes emergentes, e não há limites fixados nas legislação quanto à suas concentrações nos corpos hídricos, o estudo de seus efeitos ambientais devem ser realizados de modo a fortalecer o estabelecimento de instrumentos legais que regulamentem suas concentrações principalmente nas matrizes aquáticas visando garantir a proteção da saúde ecossistêmica e humana. O sistema teste de *Allium cepa* mostrou-se eficaz para avaliar o dano gerado pelos compostos estudados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHAT, S. A.; CUI, G.; LI, FUSHENG; VIG, A. P. Biomonitoring of genotoxicity of industrial wastes using plant bioassays. **Bioresource Technology Reports**.p. 207-216. 2019. Elsevier.

CARVALHO FILHO, J. A. A.; ALBUQUERQUE, T. B. V.; SILVA, N. B. N.; FREITAS, J. B. A.; PAIVA; A. L. R. Gestão de resíduos farmacêuticos, descarte inadequado e suas consequências nas matrizes aquáticas. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 4, 2018.

GARCÍA-MEDINA, S. GALAR- MARTINEZ, M.; GÓMEZ-OLIVÁN, A. M.; TORRES-BEZAURY, B. M. D. C.; ISLAS-FLORES, H.; GASCA-PÉREZ, E. The relationship between cyto-genotoxic damage and oxidative stress produced by emerging pollutants on a bioindicator organism (*Allium cepa*): The carbamazepine case. **Chemosphere**, v. 253, 2020.

HERRERO, O. PÉREZ MARTÍN, J.M.; FERNANDEZ FREIRE, P.; CARVAJÁL LOPÉZ, L.; PEROPADRE, A.; HANZEN, M. J. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>

JAIME- URBINA, JULIANA; VERA-SOLANO, JAVIER (2020). Los contaminantes emergentes de las aguas residuales de la industria farmaceutica y su tratamiento por medio de la ozonización. **Informador Técnico**, v. 84, n. 2, p. 21-34. Disponível em: <https://doi.org/10.23850/22565035.2305>.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A.; *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**. p. 71-81, 2009.

MEZZELANI , M. ; GORBI, S.; REGOLI, F. Pharmaceuticals in the aquatic environments: Evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. **Marine Environmental Research**, v. 140, p. 41-60. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05.001>. Acesso em: 16/06/2020.