

## INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DE ANTIBIÓTICOS SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PEIXES-ZEBRA

CRISTINE SOMAVILLA FAGUNDES<sup>1,2</sup>, RICIERI NAUE MOCELIN<sup>2,3</sup>

### 1 Introdução

A medicina moderna transformou-se radicalmente com a descoberta dos antibióticos, aumentando a expectativa de vida humana e permitindo avanços como cirurgias, transplantes e tratamentos contra o câncer. Entretanto, a ampliação de seu uso em outras áreas, como a pecuária e a agricultura, por exemplo, já induz acúmulo no meio ambiente e no organismo humano, aumentando a resistência bacteriana e os riscos à saúde pública (Hutchings; Truman; Wilkinson, 2019).

O Ciprofloxacino pode induzir efeitos negativos a nível do sistema nervoso central (SNC), como ansiedade, depressão e estresse, ao reduzirem os níveis do transportador de glutamato (GLT-1), causando excitotoxicidade. Por outro lado, a Ceftriaxona e a Claritromicina já demonstraram benefícios no SNC, com a hipótese de que atuem positivamente no eixo cérebro-intestino-microbiota, participando na regulação de acetilcolina e dopamina, bem como na prevenção do dano oxidativo nos tecidos neuronais (Zhang *et al.*, 2021).

O peixe-zebra emerge como modelo promissor para estudos pré-clínicos em neurociência, apresentando mais de 70% de homologia do SNC com o ser humano, compartilhando das mesmas substâncias que regulam o comportamento (Kalueff; Stewart; Gerlai, 2014). Destacam-se o hormônio cortisol, relacionado com o estresse, os neurotransmissores glutamato, em funções cognitivas, de recompensa e motoras, e a acetilcolina, na atividade nervosa autônoma (Horzmann; Freeman, 2016). As alterações neuronais relacionadas a mudanças comportamentais nesse modelo possibilita realizar análises neurodesenvolvimentais e toxicológicas relacionadas à saúde humana (Saluja *et al.*, 2021).

<sup>1</sup> Discente do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, contato: [cristine.fagundes@estudante.uffs.edu.br](mailto:cristine.fagundes@estudante.uffs.edu.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Neuropsicobiologia Translacional (LaNT), Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, contato: [ricieri.mocelin@uffs.edu.br](mailto:ricieri.mocelin@uffs.edu.br)

<sup>3</sup> Docente do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, contato: [ricieri.mocelin@uffs.edu.br](mailto:ricieri.mocelin@uffs.edu.br)

## 2 Objetivos

Investigar o efeito da exposição aguda aos antibióticos Ciprofloxacino, Claritromicina ou Ceftriaxona sobre o comportamento em peixes-zebra.

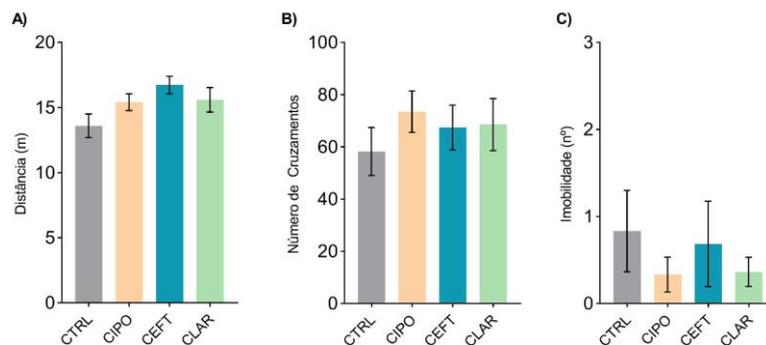
## 3 Metodologia

Um total de 96 peixes-zebra adultos (4-6 meses de idade, 50:50 machos e fêmeas) foram aclimatados por 30 dias sob condições físico-químicas adequadas, de acordo com estudos prévios (Mocelin *et al.*, 2015). Após a habituação, foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais de 24 animais (2 tanques com 12 animais) cada, sendo: Controle (veículo, sem tratamento), Ciprofloxacino (6,25 mg/L), Ceftriaxona (1 mg/L) e Claritromicina (2 mg/L), expostos durante 96h. Imediatamente após o tratamento, os peixes foram submetidos ao teste de tanque novo (NTT) para análise comportamental, em que foram observados os seguintes parâmetros: distância total percorrida (m), número de cruzamentos entre as áreas do aparato (superior, média e inferior), número de episódios de imobilidade, distância total percorrida (m) e tempo de permanência (s) nas áreas superior e inferior do aparato. Neste, os animais foram meticulosamente transferidos ao aparato e filmados individualmente por 6 minutos, com posterior análise utilizando o software ANY-Maze®.

A análise estatística foi realizada mediante avaliação da normalidade pelo teste de *D'Agostino-Pearson* e da homogeneidade através do teste de *Levene*. Os resultados foram analisados por ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de *Bonferroni's* através do software *GraphPad Prism* (versão 9.2.0). O nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$  em todas as comparações. Os efeitos tanque e sexo foram considerados durante a análise estatística, entretanto, os dados foram agrupados por não apresentar diferença significativa. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFS), através do protocolo nº 2.517.121.223.

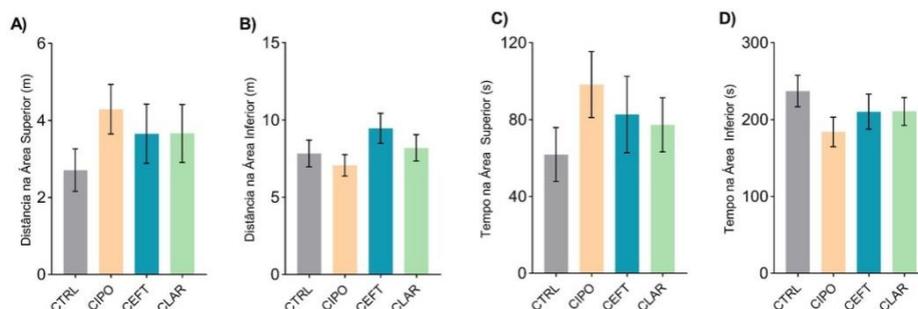
## 4 Resultados e Discussão

A exposição ao Ciprofloxacino, Ceftriaxona ou Claritromicina não induziu alteração locomotora quando comparados ao grupo controle ( $p > 0,05$ ) na distância total percorrida (m), no número total de cruzamentos entre as áreas do aparato e de episódios de imobilidade (Figura 1).



**Figura 1:** Parâmetros locomotores dos peixes-zebra expostos ao ciprofloxacino (6,25 mg/L), ceftriaxona (1 mg/L) ou claritromicina (2 mg/L) por 96 horas. (A) Distância total percorrida (m), (B) Número de cruzamentos entre áreas do tanque e (C) Episódios de imobilidade. Dados expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n=20–24).

A pesquisa também não observou a ocorrência de comportamento tipo-ansioso ou tipo-ansiolítico ao não constatar diferença significativa no tempo de permanência na área inferior e superior, respectivamente, em relação ao grupo controle (Figura 2).



**Figura 2:** Comportamento exploratório dos peixes-zebra expostos ao ciprofloxacino (6,25 mg/L), ceftriaxona (1 mg/L) ou claritromicina (2 mg/L) por 96 horas. (A) Distância percorrida na área superior, (B) Distância na área inferior, (C) Tempo de permanência na área superior e (D) Tempo na área inferior do tanque. Dados expressos como média  $\pm$  E.P.M. (n=20–24).

A exposição de peixes-zebra ao Ciprofloxacino (6,25 mg/L) induziu aumento no número de episódios de agressividade, entretanto, não apresentou dano locomotor nos animais, em consonância com nosso estudo. Apesar disso, doses elevadas (25 mg/L) apresentaram hiperlocomção nos peixes (Petersen *et al.*, 2021). Peixes-zebra expostos a Ceftriaxona (1 mg/L) não induziu dano comportamental, conforme também observado em nosso estudo, entretanto, foi capaz de reverter o comportamento tipo-ansiedade em peixes-zebra expostos cronicamente ao álcool (Agostini *et al.*, 2020). Larvas de peixes-zebra expostas a Claritromicina (2 mg/L) induziu apoptose celular e dano oxidativo (Zhang *et al.*, 2023), no

entanto, em peixes-zebra adultos a Claritromicina na mesma concentração não evidenciou alteração exploratória.

O acúmulo de antibióticos no organismo é preocupante, mas seu impacto específico no SNC ainda é incerto. Em nosso estudo, os antibióticos Ciprofloxacino, Ceftriaxona e Claritromicina não mostraram efeitos comportamentais significativos, entretanto, um maior número de concentrações para exposição e a análise comportamental isolada, devido ao tempo reduzido e demora na aprovação pelo CEUA, foram algumas das limitações do estudo, indicando a necessidade de mais pesquisas para definir concentrações seguras e terapêuticas, as quais estão sendo realizadas. Desse modo, embora os resultados apresentados alinhem-se à literatura, investigações adicionais são essenciais para avaliar seu potencial em doenças neuropsiquiátricas, integrando análises comportamentais e moleculares.

## 5 Conclusão

O estudo mostrou que a exposição por 96 h à Ciprofloxacino, Ceftriaxona ou Claritromicina não induziram alterações motoras ou comportamentais em peixes-zebra adultos, indicando segurança a curto prazo. Apesar disso, efeitos em exposições prolongadas ou sob estresse ainda precisam ser investigados. Os resultados destacam a necessidade de avaliações mais abrangentes, integrando análises comportamentais, bioquímicas e moleculares para melhor entender os riscos em transtornos mentais desses antibióticos e seus respectivos mecanismos de ação.

## Referências Bibliográficas

- AGOSTINI, J. F. *et al.* Ceftriaxone Attenuated Anxiety-Like Behavior and Enhanced Brain Glutamate Transport in Zebrafish Subjected to Alcohol Withdrawal. **Neurochemical research**, v. 45, n. 7, p. 1526–1535, 17 mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03008-z>. Acesso em: 03 set. 2024..
- HORZMANN, K.; FREEMAN, J. Zebrafish Get Connected: Investigating Neurotransmission Targets and Alterations in Chemical Toxicity. **Toxics**, v. 4, n. 3, p. 19, 27 ago. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxics4030019>. Acesso em: 03 out. 2023.
- HUTCHINGS, M. I.; TRUMAN, A. W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, Present and Future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 72–80, out. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31733401>. Acesso em: 15 nov. 2023.

KALUEFF, A. V.; STEWART, A. M.; GERLAI, R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, n. 2, p. 63–75, fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.12.002>. Acesso em: 03 out. 2023.

MOCELIN, R. *et al.* N-acetylcysteine prevents stress-induced anxiety behavior in zebrafish. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 139, p. 121–126, dez. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26261019>. Acesso em: 12 out. 2023.

PETERSEN, B. D. *et al.* Antibiotic drugs alter zebrafish behavior. Comparative biochemistry and physiology. **Toxicology & pharmacology: CBP**, v. 242, p. 108936, 1 abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108936>. Acesso em: 30 set. 2024.

SALUJA, D. *et al.* Importance of Zebrafish as an Efficient Research Model for the Screening of Novel Therapeutics in Neurological Disorders. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 20, n. 2, p. 145–157, 25 maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1871527319666201207211927>. Acesso em: 12 set 2023

ZHANG, J. *et al.* Exposure to antibiotics and mental disorders in children: a community-based cross-sectional study. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 43, n. 8, p. 3237–3253, 6 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00840-2>. Acesso em: 12 out 2023.

ZHANG, Y. *et al.* The neurobehavioral impacts of typical antibiotics toward zebrafish larvae. **Chemosphere**, v. 340, p. 139829, 1 nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139829>. Acesso em: 03 out 2024.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos; Modelos Animais; Peixe-zebra; Ciprofloxacino; Ceftriaxona; Claritromicina.

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES-2024-0099

**Financiamento:** EDITAL Nº 500/GR/UFGS/2024 (EDITAL Nº 153/GR/UFGS/2024) - PIBIC-AF CNPq