



OBSERVAÇÕES PRELIMINARES DO EFEITO DOS BLISTER FARMACÊUTICOS NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DO *DANIO RERIO* - ZEBRAFISH

Gabriela Claudia Cangahuala-Inocente

Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)

Alice da Silva Gonçalves

Mestranda no Programa de Pós-Graduação Ambiente e Tecnologias Sustentáveis da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e bolsista do Grupo Carrefour

David Augusto Reynalte-Tataje

Professor do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)

Suzymeire Baroni

Professor do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)
suzymeire.baroni@uffs.edu.br

1. Introdução

Poluentes antrópicos são substâncias lançadas no meio ambiente por atividades humanas, causando danos à natureza e à saúde. No ambiente aquático, destacam-se metais pesados, compostos orgânicos tóxicos, excesso de nutrientes agrícolas e resíduos farmacêuticos oriundos de esgotos (Reish *et al.*, 1992; Rasheed *et al.*, 2020).

Entre esses resíduos, as embalagens farmacêuticas tipo blister têm se destacado devido ao seu impacto ambiental. Apesar de protegerem os medicamentos e aumentarem sua durabilidade, essas embalagens, geralmente feitas de alumínio e PVC, são de difícil reciclagem. A união desses materiais dificulta sua separação e reaproveitamento, levando ao acúmulo em aterros e à liberação de microplásticos e toxinas (Sulareviscz *et al.*, 2020). Estudos mostram que blisters de alumínio têm um potencial de aquecimento global 70% maior do que os de PVC, que por sua vez também são prejudiciais devido à liberação de compostos tóxicos durante sua produção e descarte (Raju *et al.*, 2016; Hoppe e Araújo, 2012).

Esses resíduos afetam a fauna aquática, comprometendo a saúde, reprodução

e sobrevivência dos organismos, especialmente peixes. Espécies como o *Danio rerio* (*zebrafish*) são utilizadas como biomarcadores por sua sensibilidade nas fases iniciais da vida, capacidade de bioacumulação e ampla distribuição (Rozmánková *et al.*, 2020;



Ribeiro *et al.*, 2024).

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos citotóxicos dos poluentes antrópicos, com ênfase nas embalagens blister, durante o desenvolvimento embrionário e larval de *D. rerio*.

2. Metodologia

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética da UFFS – Campus Cerro Largo, submetidos ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), conforme normas do CONCEA. Foram utilizados peixes adultos (*D. rerio*) com 1 ano de idade, adquiridos comercialmente, mantidos em aquários de 20L com recirculação constante, filtro, separados por sexo e sob condições controladas: temperatura de 26 ± 1 °C, pH $8,0\pm 0,2$, condutividade $54,04 \pm 2,4 \mu\text{S}/\text{cm}$ e fotoperíodo 12/12h, conforme OCDE 236 (2013). A alimentação foi feita duas vezes ao dia com ração comercial.

Para simular a poluição, foram coletados blisters farmacêuticos de uso doméstico, separados em não coloridos e coloridos. Foram pesados 50g de cada tipo, colocados em 1000mL de água destilada e aquecidos em banho-maria a 40°C por 6h, simulando a temperatura ambiental entre 10h e 16h. O procedimento foi repetido 5 vezes. Foram estabelecidos quatro tratamentos: controle negativo com água destilada (T0), controle positivo com 3,4 dicloroanilina (3,7ug/ml) (T1), blister não colorido (T2) e blister colorido (T3), com 5 repetições de 60 ovos cada, totalizando 1200 embriões.

A reprodução ocorreu em aquários utilizando uma proporção de 2:1 (macho:fêmea). Os ovos foram coletados 45 minutos após a fecundação. O teste de toxicidade aguda embrião-larval seguiu o protocolo OCDE 236 (2013), com observações aos 24, 48, 72 e 96 Horas pós fertilização (hpf). As análises observações foram feitas com estereoscópio OLYMPUS SZ51 e câmera Samsung Galaxy A50. A mortalidade foi registrada diariamente.

Foram avaliados efeitos teratogênicos como: edema de pericárdio (EC), mancha de sangue (MS), edema de saco vitelínico (ESV), malformações (MF), deformações de coluna (DC) e cauda (CT), coagulação (CG), ausência de pigmentação (SP) e atraso no desenvolvimento (AD). Considerou-se afetado qualquer embrião com ao menos um desses efeitos, inexistentes no grupo controle (Silva *et al.*, 2023).

3. Resultados e discussão



A sobrevivência do controle negativo foi de $91,7 \pm 2,4\%$, o que atende aos critérios de validação da OCDE 236 (2013) para testes de toxicidade com *zebrafish*, validando nossos resultados experimentais. O controle positivo apresentou 100% de mortalidade as 24hpf. Os tratamentos T2 e T3 tiveram $79,1 \pm 13,8$ e $66,2 \pm 23,0$ % de sobrevivência respectivamente as 96hpf e dessas larvas sobreviventes $9,3 \pm 18,2\%$ apresentaram anormalidades no tratamento T2 e $73,0 \pm 37,3\%$ apresentaram anormalidades no tratamento T3.

A exposição as soluções dos blister farmacêuticos durante 24, 48, 72 e 96 horas iniciais do desenvolvimento embrionário foi suficiente para provocar todos os efeitos teratogênicos avaliados como atraso no desenvolvimento, edema de pericárdio, edema de saco vitelínico, deformação de cauda, deformação de coluna, ausência de pigmentação e coagulação (Figura 1).

Silva *et al.* (2023) recomendam o *zebrafish* como um modelo animal de intoxicação fetal para exposição a deltameetrina. Reportando que a exposição a deltameetrina por 22 h foi suficiente para induzir efeitos teratogênicos nos embriões como edemas de pericárdio e saco vitelino e deformação de coluna e cauda. Um maior tempo de exposição (46 h) provoca uma maior mortalidade dos animais.

Nur Ayumi *et al.* (2022) reportam que o uso dos extratos aquosos esclerócios de *L. rhinocerus* apresentam graus variados de toxicidade e teratogenicidade em embriões de *D. rerio*, onde os extratos frios de esclerócios apresentando maior toxicidade do que os extratos quentes. Entretanto, os efeitos do antibiótico Ceftriaxona no desenvolvimento de embriões e larvas de *D. rerio* em diferentes concentrações (0,05 -100 mg/L) não provocaram efeitos letais e subletais. Ainda assim, os cuidados com o uso e descarte desse antibiótico não podem ser negligenciados, pois foi mostrado efeitos tóxicos em outros bioindicadores e Encontrado no ambiente aquático (Oliveira e Bernardes, 2022).

4. Considerações finais

O descarte inadequado dos blister farmacêuticos assim como os eventos climáticos extremos agravam a poluição antrópica nos corpos d'água, onde diversos organismos se desenvolvem. O desenvolvimento embrionário do *D. rerio* mostra-se um modelo adequado para monitorar e demonstrar os problemas que o ser humano está produzindo.



Figura 1: Efeitos teratogênicos observados em *D. rerio* expostos a soluções de blisters farmacêuticos a 24, 48, 72 e 96 Horas pós fertilização (hpf).

Fonte: acervo do autor

Referências

AMARJI, B., et al. Package Development of Pharmaceutical Products. In: TEKADE R. (Ed.), **Advances in pharmaceutical product development and research. Dosage form design parameters**. Volume II (pp. 521–552). Amsterdam, Netherlands: Academic Press. 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814421-3.00015-4>

HOPPE, T.R.G.; ARAÚJO, L.E.B.A. Contaminação do meio ambiente pelo descarte inadequado de medicamentos vencidos ou não utilizados. **Monografias Ambientais** REMOAA/UFSM. v.6, n.6, p.1248-1262. Rio Grande do Sul, 2012 <https://doi.org/10.5902/223613084627>

NUR AYUNI, A.R., Lau, B.F., Kue, C.S. Differential toxicity and teratogenic effects of the hot water and cold water extracts of *Lignosus rhinocerotis* (Cooke) Ryvarden sclerotium on zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 258, 114787, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114787>.

OECD. Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**. 2013.

OLIVEIRA, E.M.; Bernardes M.F.F. Avaliação da toxicidade embrio-larval do fármaco veterinário de caso ceftriaxona no peixe *Danio rerio* (Zebrafish) Anais do 24 Simpósio de TCC do Centro universitário ICESP vol. 24, 859-866, 2022.



RAJU, G. et al. Comparison of environmental sustainability of pharmaceutical packaging. **Perspectives in Science**, 8, p.683–685, 2016 <https://doi.org/10.1016/j.pisc.2016.06.058>

RASHEED, T. et al. Surfactants-based remediation as an effective approach for removal of environmental pollutants—A review. **Journal of Molecular Liquids** 318, 113960, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113960>

REISH, D.J. et al. Effects of pollution on saltwater organisms. **Water environment research**, vol. 64, n. 4, p. 599 – 610, 1992.

RIBEIRO, O.M. et al. *Embriões de peixe-zebra (Danio rerio)*. **Revista Ciência Elemental**, v.12(1), 003, 2024. <http://doi.org/10.24927/rce2024.003>

ROZMÁNKOVÁ, E. et al. Environmentally relevant mixture of S-metolachlor and its two metabolites affects thyroid metabolism in zebrafish embryos. **Aquatic Toxicology**, v.221, 105444, 2020.

SULAREVISCZ A.R. et al. O potencial contaminante do descarte incongruente de blister farmacêutico: soluções ambientais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.21, n.3, Jul. - Set. /2020. <https://revistas.ufpr.br/academica/article/download/76349/42283>

SILVA, J.F. et al. Modelo de zebrafish (*Danio rerio*) para intoxicação fetal por deltametrina **REAS**, vol. 23(4) 2023. <https://doi.org/10.25248/REAS.e12357.2023>