

ESTRESSE OXIDATIVO CAUSADO PELA FLUOXETINA EM PEIXES

Carolina de Toledo Bueno¹ (IC), Daniel C.V.R. Silva (PQ)¹¹Universidade Federal de Itajubá, CNPq**Palavras-chave:** Ecotoxicologia. HeMHAS. *Poecilia reticulata*. Poluição ambiental.**Introdução**

Os corpos hídricos recebem diariamente o aporte de inúmeros compostos químicos com grande potencial de causar danos à biota aquática. Cervený et al. (2020) afirma que uma das principais formas de poluição ambiental por fármacos ocorre por meio das águas residuais, alegando a partir disso que quanto a remoção de resíduos farmacológicos, o tratamento de esgoto convencional acaba sendo ineficiente, deixando passar esses resíduos para o meio natural, interferindo em sua composição e impactando a biodiversidade local.

A fluoxetina, fármaco psiquiátrico amplamente prescrito, apresenta ocorrência em ambientes aquáticos, sendo encontrada em rios, lagos, estuários e acumulando-se em tecidos de organismos aquáticos em diferentes regiões do globo (FARIAS, 2018). Em função das concentrações e tempo de exposição, os danos podem ser irreversíveis para os organismos.

Para além das análises químicas e físicas da água, também é possível medir as alterações do ambiente por meio da resposta comportamental de alguns animais, verificando o impacto na biodiversidade. Isso ocorre principalmente com animais aquáticos, como peixes, anfíbios e crustáceos, que a partir de sistemas sensoriais, conseguem receber sinais químicos e reagir a alterações de concentrações e substâncias de acordo com sua interação com o ambiente (ARAÚJO et al., 2020)

Os objetivos desta pesquisa, expondo o peixe *Poecilia reticulata* à fluoxetina, foram: I. Avaliar o estresse oxidativo nos peixes; II. Compreender os padrões natatórios; III. Avaliar a alteração do potencial de agressividade; IV. Estudar a interferência da fluoxetina sob a dieta dos organismos.

As razões para a elaboração deste trabalho estão relacionadas à falta de dados na literatura dos efeitos da fluoxetina sobre o processo de estresse oxidativo no peixe *Poecilia reticulata* e sobre seu comportamento de predação e seleção de habitat.

Alguns estudos apontam que mesmo em baixas concentrações, o composto pode alterar o

comportamento de organismos aquáticos, levando a se tornarem menos agressivos, e a se alimentarem menos, uma vez que causam sensação de saciedade (CORREIA et al, 2023). Desta forma, o organismo é diretamente afetado, tornando-se um predador menos agressivo, ou até mesmo uma presa mais suscetível à predação.

A análise do comportamento animal em ecotoxicologia permite incorporar um aspecto crucial da ecologia: a capacidade dos organismos de modificar seu nicho. Ao se moverem em resposta a alterações ambientais, os organismos demonstram sua capacidade de evitar a exposição a contaminantes, contribuindo para a sua própria sobrevivência e a manutenção da biodiversidade (MAGALHÃES; FERRÃO, 2008).

Desta forma, pretende-se obter resultados que permitam estabelecer, quais os efeitos adversos da fluoxetina, mesmo em baixas concentrações, ao peixe *Poecilia reticulata*.

Metodologia

O peixe *Poecilia reticulata* foi mantido em aquários com condições controladas, incluindo temperatura ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), fotoperíodo natural e qualidade da água monitorada (OD , NH_4 , CaCO_3 , pH e condutividade). Os peixes foram alimentados três vezes ao dia com dieta variada, composta por ração comercial (Tetramin), espirulina e alimentos vivos (cistos de artemia e neonatos de *Daphnia similis*), produzidos no próprio laboratório.

A fluoxetina foi utilizada como substância teste em diferentes concentrações (controle, $0,05 \text{ ug.L}^{-1}$, 2 ug.L^{-1} e 80 ug.L^{-1}). Os peixes foram expostos ao fármaco por 48 horas, em dois ensaios, antes dos testes de toxicidade e de comportamento. No primeiro teste, foram utilizados 160 peixes, sendo 40 por tratamento, onde os organismos foram, posteriormente, utilizados para as análises com biomarcadores. Para o segundo ensaio, foram utilizados 48 peixes, sendo 12 por tratamento, para os testes comportamentais.

Para a análise de biomarcadores, foram coletados grupos de 40 peixes (pool) de cada tratamento com

fluoxetina. Subsequentemente, foi adicionado um tampão de homogeneização aos organismos. Alíquotas dos homogenatos produzidos foram utilizadas para quantificar danos ao [1] DNA, [2] etoxiresorufina-O-desetilase (EROD), [3] peroxidação lipídica (LPO), atividade de [4-6] enzimas antioxidantes (GST, GPx, Colinesterase) e para determinar os níveis de [7] glutathiona reduzida (GSH). A proteína total foi quantificada pelo método de Bradford (1976) para normalização dos dados.

Para avaliar os efeitos da fluoxetina no comportamento dos peixes, foram realizados testes comportamentais após 48 horas de exposição ao fármaco. Os critérios utilizados foram: padrões natatório, agressividade e comportamento de predação.

A atividade locomotora dos peixes foi analisada utilizando o software ToxTrac. O comportamento de agressividade foi avaliado induzindo o peixe a interagir com um estímulo visual (espelho). A capacidade dos peixes em capturar presas (Daphnias) foi observada, a partir da análise das gravações realizadas (CORREIA et al., 2023). Nestes três testes, um organismo por vez foi adicionado em um aquário de 2 litros para a observação, dentro dos tratamentos contendo fluoxetina (Fig. 1).

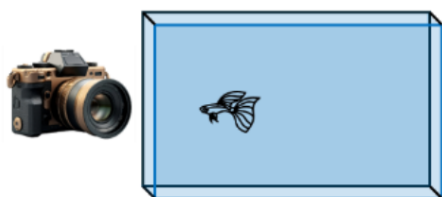


Fig. 1. Gravação dos peixes por 3 minutos nas mesmas condições onde ficaram expostos por 48 h nas soluções de Fluoxetina (controle, 0,05 ug.L⁻¹, 2 ug.L⁻¹ e 80 ug.L⁻¹)

Para comparar as diferenças entre os tratamentos (controle e diferentes concentrações de fluoxetina) foi utilizada a análise de variância (ANOVA).

Resultados e discussão

Os dados obtidos apontam alterações em 4 dos 7 biomarcadores avaliados. As análises bioquímicas revelaram alterações significativas no sistema antioxidante dos peixes expostos à fluoxetina. Observou-se um aumento na atividade da glutathiona S-transferase (GST), sugerindo uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo. Houve uma diminuição na atividade da glutathiona peroxidase (GPx) e nos níveis de glutathiona reduzida (GSH), indicando a depleção

das defesas antioxidantes e um aumento na suscetibilidade ao dano oxidativo - ($p < 0.05$) (Fig. 2).

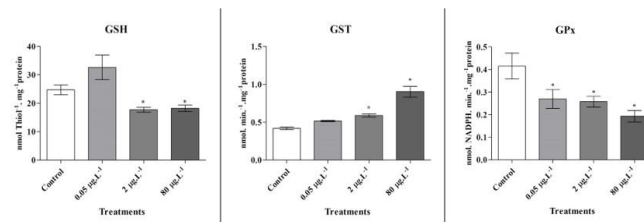


Fig. 2. Resultados da exposição de *P. reticulata* à fluoxetina, em relação aos marcadores GST, GPx e GSH.

A peroxidação lipídica - LPO (Fig. 3), um marcador de dano oxidativo, foi significativamente elevada nos peixes expostos às maiores concentrações de fluoxetina ($p < 0.05$). Sabe-se que a fluoxetina tem o potencial de se acumular nos tecidos dos peixes, incluindo o cérebro, o fígado e os músculos (CHU E METCALFE, 2007; SCHULTZ ET AL., 2010).

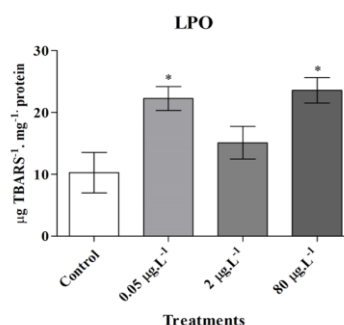


Fig. 3. Resultados da exposição de *P. reticulata* à fluoxetina (controle, 0,05 ug.L⁻¹, 2 ug.L⁻¹ e 80 ug.L⁻¹), em relação ao marcador LPO.

Os testes comportamentais (Fig. 4) revelaram que a fluoxetina induz alterações significativas na locomoção, agressividade e capacidade de predação dos peixes ($p < 0.05$).

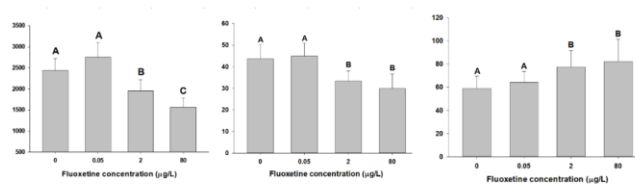


Fig. 4. Resultados da exposição de *P. reticulata* à fluoxetina (controle, 0,05 ug.L⁻¹, 2 ug.L⁻¹ e 80 ug.L⁻¹),

com relação aos testes de locomoção, agressividade e capacidade de predação dos peixes, respectivamente.

A exposição ao fármaco resultou em uma redução da atividade locomotora, sugerindo efeitos sedativos ou depressores do sistema nervoso central. Além disso, os peixes expostos à fluoxetina apresentaram uma diminuição na agressividade e na capacidade de capturar presas, indicando um comprometimento de comportamentos essenciais para a sobrevivência.

A redução da atividade locomotora e o aumento da letargia são efeitos que também contribuem para a redução da capacidade de captura de alimento (CUNHA et al., 2018).

Conclusões

A crescente presença de fármacos no meio ambiente, resultado do inadequado descarte de medicamentos e do tratamento de efluentes, tem gerado crescente preocupação com seus impactos nos ecossistemas aquáticos. Neste estudo, a fluoxetina, um antidepressivo amplamente utilizado, foi investigada quanto aos seus efeitos em *Poecilia reticulata*, um organismo modelo frequentemente utilizado em estudos de ecotoxicologia.

O aumento do estresse oxidativo, evidenciado pela peroxidação lipídica e pela depleção de antioxidantes, sugere que a fluoxetina causa danos celulares e compromete a saúde dos organismos. Além disso, as alterações comportamentais observadas, como a redução da atividade locomotora e da agressividade, indicam que a fluoxetina pode afetar a capacidade dos peixes de se adaptarem ao ambiente e de interagir com outros organismos. Esses resultados reforçam a necessidade de medidas para reduzir a contaminação por fármacos em ambientes aquáticos e proteger a biodiversidade.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à **Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)** e ao **Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo apoio à pesquisa.

Referências

ARAÚJO, C.V.M. et al., 2020. Not only toxic but repellent: What can organisms' responses tell us about contamination

and what are the ecological consequences when they flee from an environment?. *Toxics*, v. 8, n. 4, p. 118.

BRADFORD, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

CERVENY, D. et al., 2020. Bioconcentration and behavioral effects of four benzodiazepines and their environmentally relevant mixture in wild fish. *Science of the Total Environment*, v. 702, p. 134780.

CHU, S., METCALFE, C.D., 2007. Analysis of paroxetine, fluoxetine and norfluoxetine in fish tissues using pressurized liquid extraction, mixed mode solid phase extraction cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1163 (1–2), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.06.014>.

CORREIA, D., DOMINGUES, I., FARIA, M., OLIVEIRA, M., 2023. Effects of fluoxetine on fish: What do we know and where should we focus our efforts in the future?, *Science of The Total Environment*, Volume 857, Part 2. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159486>.

CUNHA, V. et al., 2018. Fluoxetine modulates the transcription of genes involved in serotonin, dopamine and adrenergic signalling in zebrafish embryos. *Chemosphere*, v. 191, p. 954-961, 2018.

FARIAS, O., 2018. Avaliação dos efeitos ecotoxicológicos e comportamentais do fármaco psicotrópico fluoxetina usando o peixe-zebra (*Danio rerio*) como espécie modelo. 2018.

MAGALHÃES, D.P., FERRÃO, F., SILVA, A., 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, v.12, n.3, p.355-381.

SCHULTZ, M.M., FURLONG, E.T., KOLPIN, D.W., WERNER, S.L., SCHOENFUSS, H.L., BARBER, L.B., VAJDA, A.M., 2010. Antidepressant pharmaceuticals in two U.S. Effluent-impacted streams: occurrence and fate in water and sediment and selective uptake in fish neural tissue. *Environ. Sci. Technol.* 44 (6), 1918–1925. <https://doi.org/10.1021/es9022706>.