

## ANÁLISE DE PARÂMETROS CITOGENOTÓXICOS DA CORVINA, *MICROPOGONIAS FURNIERI*, PROVENIENTES DE DOIS ESTUÁRIOS DA BAIXADA SANTISTA, SP.

Laís Donini Abujamara<sup>1</sup> Robson Seriani<sup>2</sup> Maria José Ranzani-Paiva<sup>2</sup> Lucas Buruaem Moreira<sup>3</sup> Denis Moledo de Sousa Abessa<sup>4</sup> Camilo Dias Seabra Pereira<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Santa Cecília (UNISANTA) - Departamento de Ecotoxicologia, Universidade Santa Cecília, Santos, SP.

<sup>2</sup> Instituto de Pesca-SP - Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos, São Paulo, SP.

<sup>3</sup> Doutorando da Universidade Federal do Ceará - Laboratório de Ecotoxicologia Marinha, Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Fortaleza, CE.

<sup>4</sup> Professor titular da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - São Vicente, SP.

<sup>5</sup> Professor titular da Universidade Santa Cecília, Santos, SP.

[ldabujamara@hotmail.com](mailto:ldabujamara@hotmail.com)

### RESUMO

O ambiente aquático tem sido alvo de contaminantes que podem induzir danos em níveis moleculares, bioquímicos, celulares e fisiológicos. A avaliação dos processos patológicos em organismos expostos a contaminantes pode ser realizada através de análises hematológicas, consideradas importantes indicadores fisiopatológicos e de qualidade ambiental. O objetivo deste estudo foi analisar parâmetros sanguíneos e citogenotóxicos da corvina *Micropogonias furnieri* dos estuários de Santos e do Rio Itanhaém, SP. Após anestesia, foi realizada a biometria e o sangue dos peixes foi coletado por punção da veia caudal, com auxílio de seringas e agulhas previamente heparinizadas. Com as alíquotas de sangue confeccionaram-se lâminas posteriormente coradas com May-Grünwald-Giensa. Foram contadas 2000 células/lâmina para determinação da frequência de micronúcleos, anomalias nucleares e eritroblastos, além do número absoluto de leucócitos e trombócitos. Foi observada maior ocorrência destes parâmetros em organismos coletados no estuário de Santos do que no estuário de Itanhaém, no entanto, não houve diferença significativa. Os valores obtidos em Itanhaém apresentaram-se altos. Estes resultados podem ser atribuídos a variações naturais da espécie em estudo no período de inverno. Devem ser realizados mais estudos com análises hematológicas e citogenotóxicas em *M. furnieri*.

**Palavras-chave:** corvina, estuário, biomarcadores.

**Apoio financeiro:** bolsa de Iniciação Científica FAPESP (processo n° 02528-4).

### 1. Introdução

Devido às crescentes atividades urbanas e industriais, os estuários e zonas costeiras vêm sendo impactados diariamente por um fluxo contínuo de contaminantes (Kirschbaum, 2010). Dependendo de sua concentração e tempo de exposição, os organismos podem apresentar alterações metabólicas, tais como danos neurológicos, infertilidade, disfunções imunológicas, diminuição do desenvolvimento e reprodução, alterações genéticas, susceptibilidade a doenças e incidência de patologias, levando muitas vezes à morte (Stegeman *et al.*, 1992). Alguns poluentes ainda apresentam persistência e bioacumulação na cadeia alimentar, podendo comprometer a saúde humana pela ingestão de organismos contaminados.

Programas de monitoramento ambiental têm recomendado o uso de biomarcadores para detecção de danos causados por contaminantes, tornando possível a observação precoce dos efeitos em organismos, antes da ocorrência de danos irreversíveis (De Caprio, 1997).

Biomarcadores em peixes são considerados importantes ferramentas de avaliação da qualidade ambiental. O emprego de parâmetros citogenotóxicos, principalmente em organismos aquáticos como forma de avaliação da qualidade ambiental, permite avaliar o efeito dos poluentes no meio hídrico, bem como alterações de seu potencial tóxico ou genotóxico após interação com o ambiente (Jesus, 2008). Através de análises hematológicas, é possível obter informações e respostas das condições fisiológicas dos animais expostos aos contaminantes.

Um indicador de dano ao material genético comumente utilizado é o micronúcleo, formado pela condensação de fragmentos do cromossomo ou cromossomos retardados durante a migração anafásica, que se detectam em células interfásicas mediante técnicas simples de coloração, aparecendo no citoplasma como pequenos fragmentos basófilos (Jesus, 2008). Os MN podem aparecer por várias causas, entre elas por falha mitótica, tanto de fragmentos acêntricos de cromossomos, gerados por ruptura (clastogenicidade), quanto de cromossomos completos (aneuploidia), como consequência, geralmente, de enfermidades genéticas (Porto et al. 2005).

A corvina *Micropogonias furnieri* (Scianidae), é uma espécie de grande importância econômica e ecológica, tendo em vista que representa uma grande fonte de pesca e possui hábito alimentar diversificado, desde organismos do nécton até bentos, estando diretamente exposta à contaminação. No estado de São Paulo, a corvina é comumente encontrada ao longo da costa, principalmente em regiões estuarinas (Carneiro et al., 2005). Considerando que muitas áreas costeiras do estado estão se tornando cada vez mais contaminadas (Lamparelli et al., 2001), esta espécie pode estar sujeita aos efeitos da poluição.

O objetivo deste estudo é avaliar respostas citogenotóxicas (frequência de anomalias nucleares, micronúcleos e eritroblastos) e determinar o número absoluto de leucócitos e trombócitos em eritrócitos de *M. furnieri* juvenis, provenientes de dois estuários com diferentes níveis de degradação, o estuário de Santos e do Rio Itanhaém, ambos no Estado de São Paulo.

## 2. Material e Métodos

O estuário do Rio Itanhaém está localizado ao sul da baixada santista (23°50'-24°15'S; 46°35'00"W). Seu uso e ocupação estão associados ao turismo e a pesca, tendo como influências antrópicas mais evidentes, o escoamento de águas pluviais e a presença de marinas (Seriani et al., 2009). Estudos recentes exibiram boa qualidade de água e sedimento (Abessa et al., 2006; Camargo & Biudes, 2006).

O estuário de Santos (23°30'-24° S; 46°05'-46°30'W), por sua vez, é caracterizado por ser uma área de intensamente poluída, em que múltiplas fontes de contaminação estão presentes, como o complexo industrial de Cubatão e o Porto de Santos. Alguns estudos recentes de Cesar et al. (2007), Sousa et al. (2007) e Abessa et al. (2008) observaram toxicidade dos sedimentos da região, que continham substâncias como metais, hidrocarbonetos poli-aromáticos (HPA's) e bifenilas poli-cloradas (PCB's), apresentando riscos aos organismos bentônicos e demersais, como *M. furnieri*.

No presente estudo, foram coletados dez indivíduos jovens de *M. furnieri* nos estuários de Santos e de Itanhaém, no período do inverno em 2010. Os peixes foram imediatamente transferidos a tanques contendo água do local de coleta, onde permaneceram em fase de aclimação por aproximadamente 30 minutos. Após anestesia, foi realizada a biometria dos organismos e o sangue foi retirado por punção da veia caudal, com o auxílio de agulhas e seringas previamente heparinizadas. Foram confeccionadas lâminas coradas com May-Grünwald-Giemsa (Rosenfeld, 1947) para a determinação da frequência de eritroblastos (Erb), anomalias nucleares (AN) e micronúcleos (MN)

em 2000 células (Carrasco et al., 1990) e do número absoluto de leucócitos e trombócitos.

## 3. Resultados

Os peixes do estuário de Itanhaém apresentaram comprimento médio e peso de, respectivamente,  $201 \pm 11,3$  mm e  $83,9 \pm 14,8$  g e os de Santos,  $205,5 \pm 25,6$  mm e  $78,3 \pm 18$  g.

Os dados da frequência de MN, AN e Erb em 2000 células foram, respectivamente, de:  $0,7 \pm 1,05$ ;  $34,6 \pm 26,4$ ;  $43,8 \pm 10,1$  em Itanhaém e  $1,1 \pm 1,37$ ;  $36,2 \pm 16,5$  e  $49,5 \pm 17,03$  em Santos. Os números absolutos de leucócitos e trombócitos foram  $13720 \pm 1991,04$  Leu/mm<sup>3</sup> e  $1949,35 \pm 388,8$  Tr/mm<sup>3</sup> em Itanhaém e  $21442,9 \pm 2249,2$  Leu/mm<sup>3</sup> e  $1574,5 \pm 388,9$  Tr/mm<sup>3</sup> em Santos. Os resultados não apresentaram diferença significativa e os maiores valores para todos os parâmetros foram encontrados em Santos. Os resultados foram apresentados na tabela 1.

## 4. Discussão

Análises citogenotóxicas têm sido consideradas importantes indicadores de poluição, tendo em vista sua sensibilidade e possibilidade de correlação com a contaminação ambiental. Além disso, dados de genotoxicidade podem ser utilizados como sinais de alerta de degradação ambiental, permitindo a implementação de medidas de controle quando há risco biológico (Pisoni et al., 2004).

Conforme demonstrado por Shimizu et al. (1999), a célula, ao detectar uma região afetada, inicia um processo de eliminação; deste modo, há um rearranjo da cromatina e a parte afetada é deslocada à periferia do núcleo até ser eliminado totalmente por exocitose. Deste modo, antes da eliminação completa, o envelope nuclear pode apresentar imperfeições, caracterizando as anomalias nucleares. Só que este mecanismo não é muito eficiente porque muitas vezes não consegue eliminar totalmente o fragmento de dentro do núcleo, então este fragmento permanece na periferia do envelope nuclear corroborando o fato de encontrar maior número de anomalias do que micronúcleos.

Todos os parâmetros apresentaram-se maiores em Santos, corroborando com os resultados obtidos por Amado et al., 2006 e Kirschbaum et al., 2009, tornado possível atribuir danos citogenéticos e diminuição da defesa imunológica dos peixes à contaminação ambiental do estuário.

## 5. Conclusão

Os organismos de ambientes poluídos tendem a apresentar mais danos citogenéticos em células, no entanto neste estudo não foi possível a comprovação de um quadro hematológico de estresse, tendo em vista que podem ter ocorrido variações sazonais da espécie. Torna-se necessária a realização de mais estudos com parâmetros hematológicos e citogenotóxicos da corvina.

## 6. Agradecimentos

À FAPESP pela bolsa de Iniciação Científica (processo nº 02528-4)

## 7. Referências

- ABESSA, D. M. S.; PINNA, F. V.; ROMANO, P.; SERIANI, R.; SILVEIRA, F. L. & MAGINI, C. Water Quality at the Estuary of the Itanhaém River, SP, Brazil. In: Environmental and Health World Congress, 2006, Santos. Proceedings of Environmental and Health World Congress. Santos: COPEC. p. 42-45.
- ABESSA, D. M. S., CARR, R. S., SOUSA, E. C. P. M., RACHID, B. R. F., ZARONI, L. P., PINTO, Y. A., GASPARRO, M. R., BÍCEGO, M. C., HORTELLANI, M. A., SARKIS, J. E. & MACIEL, P. M. Integrative Ecotoxicological Assessment of a Complex Tropical Estuarine System. In: T.N. Hoffer. (Org.). Marine Pollution: New Research. New York City: Nova Science Publishers Inc, 2008, p. 1-36.
- CAMARGO, A. F. M. & BIUDES, J. F. V. Influence of limnological characteristics of water in the occurrence of *Salvinia molesta* and *Pistia stratiotes* in rivers from the Itanhaém River basin (SP, Brazil). *Acta limnol. Bras.*, v.18, n. 3, 2006, p. 239-246.
- AMADO, L.L.; ROSA, C.E.; LEITE, A.M.; MORAES, L.; PIRES, W.V.; PINHO, G.L.; MARTINS, C.M.G.; ROBALDO, R.B.; NERY, L.E.M.; MONSERRAT, J.M.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, P.E. & GERACITANO, L.A. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei:Sciaenidae) from polluted and non-polluted areas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): Evidences of genotoxic and immunological effects. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, v. 52, p. 199-206.
- CARNEIRO, M. H.; CASTRO, P. M. G. DE; TUTUI, S. L.DOS S. & BASTOS, G. C. C. *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Estoque Sudeste) IN: ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. (Org.). Análise das principais pescarias comerciais do sudeste-sul do Brasil: Dinâmica populacional das espécies em exploração. São Paulo: Programa REVIZE-E/MMA/SECIRM/FEMAR., 2005, p. 94-100.
- CARRASCO K.R.; TILBURY, K.L. & MYERS, M.S. Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 1990, 47: 206.
- CESAR, A., CHOUERI, R.B., RIBA, I., MORALES-CASELLES, C., PEREIRA, C.D.S., SANTOS, A.R., ABESSA, D.M.S. & DELVALLS, T.A. Comparative sediment quality assessment in different littoral ecosystems from Spain (Gulf of Cadiz) and Brazil (Santos and São Vicente estuarine system). *Environment International*, 2007, 33: 429-435.
- DECAPRIO, A.P. Biomarkers: Coming of age for environmental health and risk assessment. *Environmental Science Technology*, 1997, 31: 1837-1848.
- JESUS, T.B. & DE CARVALHO, C.E.V. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecol. Bras.*, 2008, 12 (4): 680-693.
- KIRSCHBAUM, A.; SERIANI, R.; PEREIRA, C.D.S.; ASSUNÇÃO, A.; ABESSA, D.M.S.; ROTUNDO, M.M. & RANZANI-PAIVA, M.J.R. Cytogenotoxicity biomarkers in fat snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 2009, v.32, p. 151-154.
- LAMPARELLI, M.L., COSTA, M.P., PRÓSPERI, V.A., BEVILÁQUIA, J.E., ARAÚJO, R.P.A., EYSINK, G.G.L. & POMPEIA, S. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. Relatório Técnico CETESB, São Paulo, SP, 2001, 178 p.
- Pisoni, M.; Cogotzi, L.; Frigeri, A.; Corsi, I.; Bonacci, S.; Iacocca, A.; Lancini, L.; Mastrototaro, F.; Focardi, S. & Svelto, M. DNA adducts, benzo(a)pyrene monooxygenase activity, and lysosomal membrane stability in *Mytilus galloprovincialis* from different areas in Taranto coastal waters (Italy). *Environ Res*, 2008, 96:163-175.
- PORTO, J.I.R.; ARAÚJO, C.S.O. & FELBERG, E. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research*, 2005, 97: 287-292.
- Rosenfeld, G. Corante pancrômico para hematologia e citologiadínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem Inst Butantan*, 1947, 20:29-34.
- SERIANI, R.; MOREIRA, L.B.; ABESSA, D.M.S.; ABUJAMARA, L.D.; CARVALHO, N.S.B.; KIRSCHBAUM, A.; MARRANHO, L.A. & RANZANI-PAIVA, M.J.T. Análises hematológicas em *Micropogonias furnieri* provenientes de dois estuários da Baixada Santista. *Brazilian Journal of Oceanographic*. Print ahead, 2010.
- SHIMIZU, N.; ITOH, N.; UTIYAMA, H. & WAHL, G.M. Selective Entrapment of Extrachromosomally Amplified DNA by Nuclear Budding and Micronucleation during S-Phase. *J. Cell Biol.*, V. 140, no.6, March 23, 1998, 1307-1320.
- SOUSA, E.C.P.M, ABESSA, D.M.S., RACHID, B.R.F., GASPARRO, M.R. & ZARONI, L.P. Ecotoxicological assessment of sediments from the port Santos and the disposal sites of dredged material. *Brazilian Journal of Oceanography*, 2007, 55:75-81
- STEGEMAN, J.J., BROWER, M., Di GIULIO, R.T., FORLIN, L., FOWLER, B.A., SANDERS, B. M. & VAN VELD, P. A. Molecular Responses to Environmental Contamination: Enzyme and Protein Systems as Indicators of Chemical Exposure and Effect. 1992. In: Biomarkers. Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress. Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle Jr., P.P., Bergman, H .L. Eds. Lewis Publishers. Chelsea, MI, USA, pp. 235-335.

Tabela 1: Resultados obtidos para biometria, freqüência e nº absoluto de células.

|                      | <b>Biometria</b> |                   | <b>Freqüência em 2000 células</b> |                |               | <b>Célula/mm<sup>3</sup></b> |                    |
|----------------------|------------------|-------------------|-----------------------------------|----------------|---------------|------------------------------|--------------------|
|                      | <b>Peso (g)</b>  | <b>Comp. (mm)</b> | <b>Eritro-blastos</b>             | <b>AN</b>      | <b>MN</b>     | <b>Leucócitos</b>            | <b>Trombócitos</b> |
| <b>Est. Itanhaém</b> | 83,9 ±<br>14,8   | 201 ±<br>11,3     | 43,8 ±<br>10,1                    | 34,6 ±<br>26,4 | 0,7 ±<br>1,05 | 13720 ±<br>1991,04           | 1949,35 ±<br>388,8 |
| <b>Est. Santos</b>   | 78,3 ±<br>18     | 205,5 ±<br>25,6   | 49,2 ±<br>17,03                   | 36,2 ±<br>16,5 | 1,1 ±<br>1,37 | 21442,2 ±<br>2249,2          | 1574,5 ±<br>388,9  |