Ensaios ecotoxicológicos realizados com Ácido Acetilsalicílico presente na área do emissário submarino de Santos, SP, Brasil

Barbara Faria Lourenço[1]; Walber Toma[1,2]; Fabio Hermes Pusceddu[1]; Fernando S. Cortez[2]; Aldo Ramos Santos[1]; Luciana Lopes Guimarães[1]

[1] Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos – Universidade Santa Cecília, Santos, SP.
[2] Universidade São Camilo, SP.

E- mail: babifl@gmail.com

Resumo: No Brasil estudos realizados quantificaram diferentes classes de medicamentos no ambiente marinho, os quais podem causar efeitos biológicos na biota local, dentre eles, foi encontrado o composto ácido acetilsalicílico. Pensando neste agravante, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do medicamento Ácido Acetilsalicílico, através de ensaios ecotoxicológicos com *Echinometra lucunte*r, a fim de avaliar efeitos agudos e crônicos. Os ensaios foram realizados de acordo com o protocolo da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) e a norma brasileira ABNT 15350. Os resultados para toxicidade aguda e crônica apontaram uma CI_{50} acima de 100 e 63,73 $mg.L^{-1}$, respectivamente, classificando o AAS como um medicamento persistente, porém que não causa efeitos degenerativos quando encontrado em baixas concentrações no ecossistema marinho.

Palavras-chave: Medicamentos. Ácido Acetilsalicílico. Efeitos biológicos. Ensaios ecotoxicológicos.

Ecotoxicological tests performed with Acetylsalicylic Acid present in the submarine emissary area of Santos, SP, Brazil

Abstract: In Brazil, studies have quantified different classes of drugs in the marine environment, which may cause biological effects in the local biota, among them the acetylsalicylic acid compound was found. The objective of this study was to evaluate the toxicity of Acetylsalicylic Acid by means of ecotoxicological tests with *Echinometra lucunter* in order to evaluate acute and chronic effects. The tests were performed according to the US Environmental Protection Agency (USEPA) protocol and the Brazilian standard ABNT 15350. The results for acute and chronic toxicity indicated an IC50 above 100 and 63.73 $mg.L^{-1}$, respectively, classifying ASA as a persistent drug, but which does not cause degenerative effects when found in low concentrations in the marine ecosystem.

Keywords: Medications. Acetylsalicylic acid. Biological effects. Ecotoxicological tests.

Introdução

A grande expansão dos centros urbanos e industriais tem aumentado à degradação da qualidade de recursos hídricos, devido à liberação de substâncias no ambiente, as quais são classificadas como contaminantes emergentes ou micropoluentes, ou seja, compostos químicos que não se degradam facilmente e que não tem regulamentação própria [1].

Com o passar do tempo, os fármacos estão cada vez mais presentes nos ambientes aquáticos, tendo como principal agravante a sua capacidade de persistência e os possíveis impactos que podem trazer aos organismos presentes nestes ecossistemas [2], comprometendo significativamente a fisiologia, o metabolismo e o comportamento das espécies da biota local.

Os contaminantes emergentes podem alcançar o ambiente aquático a partir do descarte inadequado de medicamentos vencidos, eliminação de metabólitos de medicamentos humanos e veterinários que chegam ao esgoto e, através das estações de tratamento (ETEs) esses efluentes passam por um tratamento, a fim de retirar substâncias sólidas ou flutuantes presentes, porém não ocorre à eliminação de compostos químicos que seguem em direção ao ambiente [3]. Outras formas dessas substâncias alcançarem o ambiente seriam através do lodo residual das ETEs utilizados como fertilizantes por agricultores [4] e do despejo de esgoto diretamente nos ambientes aquáticos. Estes problemas persistem devido à falta de uma política relacionada ao monitoramento das substâncias que são liberados no ecossistema aquático.

O período da exposição desses medicamentos pode gerar efeitos agudos, de imobilidade ou mortalidade rápida nos organismos ou efeitos crônicos, em que essas substâncias são mais persistentes ao ambiente, trazendo complicações no desenvolvimento de organismos [5].

A ocorrência de medicamentos lançados no meio aquático gerou preocupações importantes em diversos países, inclusive no Brasil, um dos líderes do mercado farmacêutico. Com isso diversos estudos têm sido realizados, com o intuito de detectar a presença de contaminantes emergentes no ambiente aquático.

Em estudos anteriores, realizado pelo nosso grupo de pesquisa, foram quantificadas diferentes classes de medicamentos em água superficial e de fundo na área de descarte do efluente do emissário submarino de Santos/SP, através de análises por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de massas (LC/MS/MS), em concentrações entre de $ng \cdot L^{-1}$ a $\mu g \cdot L^{-1}$ [6]. Entre os diferentes medicamentos presentes nessas amostras marinhas, foi encontrado o composto ácido acetilsalicílico (AAS), um medicamento não esteroidal que fornece efeitos analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios em humanos através da inibição de ambos os tipos de ciclooxigenase (COX-1 e COX-2) [7].

Objetivo

Pensando nestes agravantes, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do medicamento Ácido Acetilsalicílico (AAS), encontrado no emissário de Santos/SP, através de análises ecotoxicológicas com *Echinometra lucunte*r, que foi encontrado neste ecossistema, a fim de avaliar efeitos agudos e crônicos que podem causar nestes organismos.

Metodologia

Organismo- teste

Os ensaios foram realizados com o organismo *Echinometra lucunter*, animal invertebrado do filo Echinodermata, escolhido devido a respostas rápidas que podem surgir quando expostos a substâncias contaminantes e a quantidade encontrada no ambiente.

Ensaios de toxicidade

Foi realizado o ensaio de toxicidade aguda com intuito de avaliar o processo de fecundação dos gametas e, o ensaio de toxicidade crônica que avalia o desenvolvimento embriolarval do *E. lucunter*.

Os ensaios foram realizados de acordo com o protocolo da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) e a norma brasileira ABNT 15350 [8].

Etapas dos ensaios

Foram realizados testes preliminares para encontrar concentrações em que os resultados fossem significativos, seguidos de três ensaios, partindo das concentrações de 12,5, 25, 50, 100 e 200 $mg.L^{-1}$, onde obteve 4 replicas em cada concentração.

Após o tempo de exposição dos organismos nas concentrações estipuladas, foi observada a membrana de fecundação que fica ao redor do zigoto para o ensaio agudo e, o para o ensaio crônico foi avaliado o desenvolvimento dos pluteos, larvas de *E. lucunter*.

Resultados

Para expressar os resultados foram estabelecidas as concentrações onde não foram observados efeitos biológicos (CENO) e, as concentrações que causaram efeitos nos organismos observados (CEO), pelo programa estatístico Graphpad Prism® (Figura 1) e, as concentrações que causaram inibição no desenvolvimento embriolarval em 50% dos organismos (CI_{50}) através do método de Interpolação Linear [9].

Os resultados para toxicidade aguda apontaram uma CI_{50} acima de 100 $mg.L^{-1}$ para inibição de 50% da fecundação dos gametas, este valor classificou AAS como não tóxico. Já, os testes de toxicidade crônica com AAS estão expressos na Tabela 1.

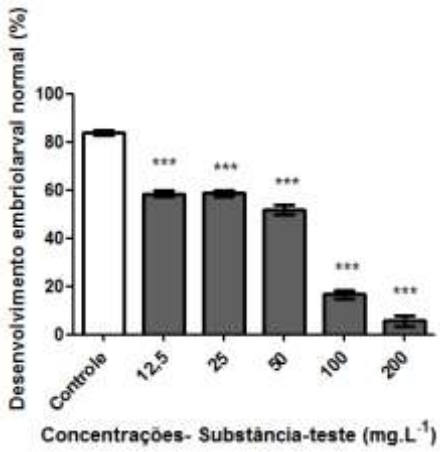


Figura 1- Valores médios de toxicidade crônica (desenvolvimento embriolarval normal) de *E. lucunter* frente à exposição de concentrações de Ácido Acetilsalicílico (AAS).

Tabela 1- Resultados dos ensaios de toxicidade crônica de *E. lucunter* com o Ácido Acetilsalicílico.

CENO ($mg.L^{-1}$)	CEO ($mg.L^{-1}$)	CI_{50} ($mg.L^{-1}$)	IC superior ($mg.L^{-1}$)	IC inferior ($mg.L^{-1}$)
< 12,5	12,5	63,73	68,81	57,54

CI50- Concentração Inibitória 50%; CEO- Concentração de Efeito Observado; CENO- Concentração de Efeito Não Observado; IC- Intervalo de Confiança.

Discussão

Apesar destes resultados, é improvável que os efeitos biológicos adversos no ambiente aquático com AAS ocorram, considerando as concentrações ambientais previamente detectadas para este medicamento em amostras de água do mar serem menores das quais apresentaram nos ensaios de efeitos tóxicos.

Algumas características do medicamento são importantes para avaliar sua ação no ecossistema, como o seu Log Kow, pois esse fator avalia a sua polaridade em solventes, mostrando que o AAS é facilmente solúvel em água, o que dificulta a bioacumulação nos organismos aquáticos, o que pode explicar o valor de sua CI_{50} no *E. lucunter*.

Mesmo o ensaio apontando uma concentração alta do AAS para causar efeitos agudo e crônico nos organismos testados, torna-se importante a continuidade de estudos de monitoramento de compostos emergentes nos ambientes aquáticos, seguidos de ensaios de toxicidade, identificando se essas substâncias possuem efeitos na biota aquática e a busca por sistemas de tratamento de efluentes para eliminar esses contaminantes presentes na água.

Quando esses contaminantes emergentes estão presentes nos ecossistemas aquáticos em baixas concentrações, eles não são capazes de trazer efeitos aos organismos. No entanto,

alguns casos já foram já reportados, em que os resíduos de medicamentos atingiram concentrações elevadas para causar efeitos agudos nos organismos desses ecossistemas.

Conclusão

Os ensaios de toxicidade aguda e crônica foram realizados com o organismo *E. lucunter*, frente a concentrações de AAS, medicamento detectado no emissário submarino de Santos/SP, e mostraram que os valores de efeito são altos para serem encontrados no ambiente aquático, classificando o AAS como um medicamento persistente, porém que não causa efeitos degenerativos quando encontrados em baixas concentrações no ecossistema marinho.

Agradecimentos

A CAPES pela bolsa concedida ao primeiro autor, a Universidade Santa Cecília e os laboratórios pelo espaço para a realização dos estudos e aos professores que participaram e ajudaram nas pesquisas.

Referências

1. NOSSOL, ABS.(2015) Preparo, Caracterização E Aplicação de Nanocompósitos TiO2/C Na Degradação De Poluentes Emergentes Por Fotocatálise Heterogênea. Curitiba. Universidade Federal do Paraná. 2015. 108 f. Dissertação (Mestrado em química). Curitiba.
2. GHISELLI, G. ; JARDIM, W.(2007) Interferentes endócrinos no Ambiente. Química Nova, v. 30, n. 3, p. 695-706.
3. BILA, DM.; DEZOTTI, M.(2003) Fármacos no Meio Ambiente. Química Nova, v.26, n.4, p.523-530.
4. CARVALHO, CT; JUNIOR, RM; AMÉRICO-PINEHIRO, JHPO. (2016) uso indiscriminado de antibióticos e os impactos nos ambientes aquáticos. Fórum ambiental da alta paulista, v.12, n.2.
5. DAUGHTON; CG, TERNES; TA. (1999) Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? Environmental Health Perspectives 107: 907-938.
6. GUIMARÃES, L. L.; PEREIRA, C. S.; CORTEZ, F. S.; TOMA, W.; CHOUERI, R. B.; PUSCEDDU, F. H.; SANTOS, A. R.; CESAR, A.. Determinação de Fármacos na área de influência do emissário submarino de Santos,SP. In: XII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 2012, Porto de Galinhas/PE. Anais do XII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. 2012.
7. MARQUES, CPRR.(2003) **Efeitos tóxicos do ácido acetilsalicílico e seus principais metabolitos em espécies padrão e autóctones**. Dissertação- Universidade de Aveiro.
7. ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2012). Ecotoxicologia Aquática. – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com Ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea). Rio de Janeiro. NBR 15350.
9. USEPA (1988). **An interpolation estimate for chronic toxicity: The Icp approach**. Norberg-King, T. J. Technical Report 05-88, National Effluent Toxicity Assessment Center, Environmental Research Laboratory, U. S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN 55804.