

Interação entre Microplástico e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) e os Efeitos desta sobre a Histopatologia Estomacal e Intestinal da Espécie Neotropical *Astyanax lacustris*

Juan Martins de Campos e Silva¹, Larissa Tais Traldi Wintruff¹, Gisela G. Castilho Westphal², Luciana Rodrigues de Souza-Bastos³, Helen Sadauskas-Henrique¹

¹Universidade Santa Cecília (UNISANTA) - Santos-SP, Brasil

²Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Curitiba-PR, Brasil

³Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC) – Curitiba-PR, Brasil

E-mail: jmcs360.jm@gmail.com

Resumo

A produtividade em escala global vem crescendo ao longo dos anos e, com aumento da utilização de produtos plásticos a demanda por uma forma de administrar esses recursos também deve crescer. A existência desses produtos no meio ambiente apresenta a capacidade de causar fatores deletérios como danos físicos devido a ingestão por parte dos animais em contato com esses produtos. Substâncias tóxicas presentes na água como hidrocarbonetos tem sua ocorrência tanto naturalmente quanto de forma antropogênica. Com a ocorrência de microplástico e a interação entre esses compostos os danos aos organismos podem ser potencializados. Histologia é uma excelente ferramenta de avaliação dos efeitos desses elementos. A espécie utilizada foi *Astyanax lacustris* ou lambari, como é chamado popularmente, que vem sendo utilizado na área de ecotoxicologia por ser um peixe amplamente distribuído no Brasil e que tem papel fundamental na cadeia alimentar. O objetivo deste trabalho é avaliar danos causados pela interação de HPAs e microplástico à espécie *A. lacustris* via observação de dados histológicos em tecidos estomacais e intestinais. Para isso, foram considerados 6 tratamentos, sendo: Controle, controle sem manuseio MP inerte, HPA, MP+HPA e MP contaminado. Conclui-se que os indivíduos de *A. lacustris* apresentam alterações histopatológicas em tecido estomacal e intestinal nos tratamentos citados com exceção dos expostos as condições controle e MP+HPA.

Palavras-chave: Lambari; Produtos plásticos; Tecido estomacal; Tecido intestinal; Histopatologia.

Interaction between Microplastic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (HPA) and its effects on Stomach and Intestinal Histopathology of Neotropical Species *Astyanax lacustris*

Abstract: Productivity on a global scale has been growing over the years, and with increased use of plastic products the demand for a way to manage these resources should also grow. The existence of these products on the Environment does not present the ability to exacerbate deleterious factors such as physical damage due to ingestion by animals in contact with these plastic products. Toxic substances present in water as hydrocarbons, have their occurrence both naturally and anthropogenically. With the occurrence of microplastic these damages can be enhanced. Histology is an excellent tool for evaluating the effects of these elements, as it acts as a data supply on the effects caused. be used is *Astyanax lacustris* or tetra fish, as it is popularly called, has been used in the area The specimen to of ecotoxicology because it is a widely distributed fish in Brazil and you have a key role in the food chain. The objective of this work is to evaluate damages caused by the interaction of HPAs and microplastic to the species *A. lacustris* through observation of histological data in stomach and intestinal tissues. For this, four treatments were considered: inert MP, HPA, MP+HPA and contaminated MP.

It was concluded that the individuals of *A. lacustris* present histopathological alterations in stomach and intestinal tissue in the treatments mentioned except for control and MP+HPA.

Keywords: Tetra fish; Plastic products; Stomach tissue; Intestinal tissue; Histopathology.

Introdução

Atualmente diversos produtos de utilidade doméstica e industrial apresentam o plástico em sua composição. Com o crescimento da utilização de produtos desta natureza, problemas como descarte inadequado e contaminação ambiental já se tornaram realidade. Produtos plásticos são encontrados em ambientes aquáticos de água doce [1] e salgada de todo o mundo [2]. A existência desses produtos nesses ambientes, em diversos formatos e tamanhos [3], pode causar efeitos deletérios à organismos como, por exemplo, danos físicos decorrentes da ingestão desses produtos [4]. Microplásticos, são produtos plásticos que apresentam dimensões reduzidas (entre 1 e 5 mm) além de serem facilmente ingeridos apresentam a capacidade de transportar compostos tóxicos ampliando o risco de contaminação em organismos aquáticos [5]. Substâncias tóxicas presentes na água, como os hidrocarbonetos, são reconhecidos por causar danos à saúde de organismos aquáticos, os quais variam de narcose e disfunção cardíaca a danos como mutagenicidade e carcinogenicidade [6, 7]. Com vistas ao exposto, buscou-se, através da utilização da histologia, o fornecimento de dados sobre os efeitos causados pela interação entre microplásticos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (derivados do petróleo) sobre a espécie *Astyanax lacustris* ou lambari do rabo amarelo.

Objetivos: Avaliar danos causados por HPAs e microplástico tanto isolados quanto de forma sinérgica via observação de dados histológicos em tecidos estomacais e intestinais de *Astyanax lacustris*.

Material e Métodos

Espécimes de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) com peso aproximado de 15 g, foram acondicionados de forma individual em aquários de vidro com 4 L de capacidade (todos com água doce) e submetidos a 6 tratamentos (n=12) designados: Controle, Controle sem manuseio, Microplástico inerte (MP inerte), HPA, Microplástico + HPA (MPHPA) e por fim Microplástico previamente contaminado com HPA (MP contaminado). Todos os tratamentos foram mantidos sob aeração ($OD \geq 6,5$ mg/L) e temperatura ($25,0 \pm 1,0$ °C) constantes. Após 96h de exposição a cada uma das condições experimentais, os animais foram anestesiados e sacrificados para a remoção dos tecidos (intestinal e estomacal) necessários às análises. Imediatamente após a remoção dos tecidos, eles foram fixados em

ALFAC por 24H, em seguida transferidos para solução de álcool 70% até serem emblocados. Os blocos foram trimados, seccionados (5m) e corados com ácido periódico de Schiff e contra-corados com hematoxilina (PAS-H). As lâminas foram observadas em um microscópio de luz, em aumento de 100x vezes com o uso de óleo de imersão.

Resultados

Foram encontradas alterações histopatológicas nos tecidos estudados, conforme detalhado na Tabelas 1 .

Tabela 1. Frequência de ocorrência de histopatologias presentes em tecido estomacal e intestinal de *A. lacustris*.

Estômago		Grau	Controle	Controle s/ manuseio	MP inerte	HPA	HPAMP	MP contaminado
Vacuolização		I	0	0	0+	0	0	0
Quebra de microvilosidades		I	0	0	0+	0	0	0
Hiperplasia celular		I	0	0+	0	0	0	0+
Inchaço celular		I	0	0	0+	++	0	0+
Microvilosidades invertidas		I	0	0	0	0	0	0
Encurtamento de tecido		I	0	0	0	0	0	0
Dano sub mucosa		I	0	0	0	0	0	0
Vacuolização por necrose		I	0	0	0	0	0	0
Agregado de células sanguíneas		I	0	0	0	0	0	0
Degeneração citoplasmática		II	0	0	0	0	0	0
Hemorragia		II	0	0	0	0	0	0
Intestino		Grau	Controle	Controle s/ manuseio	MP inerte	HPA	HPAMP	MP contaminado
Estroma alargado		I	0	0	0	0	0	0
Degeneração submucosa		I	0	0	0+	0	0	0
Degeneração do epitélio		I	0	0	0	0+	0	0
Hiperplasia epitelial		I	0	0+	0	0	0	0+
Aumento de leucócitos na submucosa		I	0	0	0	0	0	0
Exfoliação epitelial		I	0	0	0	0	0	0

0 Ausência; 0+ Ocorrência rara; + Presente; ++ Frequente; +++ Muito frequente

Discussão

Os tecidos observados nos espécimes de *A. lacustris* apontam a presença de patologias decorrentes dos contaminantes presentes nos tratamentos. Os tecidos estomacal e intestinal armazenam boa parte do material ingerido. É de se observar a maior frequência de ocorrência de patologias presentes nos tratamentos MP inerte, HPA e MP. Se compararmos ao tratamento controle e MP+HPA, é possível visualizar a ausência de patologias nos mesmos, evidentemente no tratamento controle esse resultado era esperado, porém, no caso do MP+HPA suspeita-se que o microplástico com o HPA, por algum motivo, não foi consumido como nos demais tratamentos ou não alterou a relação de contato por afetar a permeabilidade do hidrocárboneto. Mais estudos são sugeridos para uma melhor interpretação dessa resposta referente ao tratamento citado.

Conclusões

Alterações histopatológicas no estômago e intestino de *A. lacustris* foram encontradas nos tratamentos com MP inerte, HPA e MP contaminado, que sugere os efeitos abrasivos do MP aos tecidos e os efeitos tóxicos dos HPAs para a espécie estudada.

Agradecimentos:

Este estudo foi financiado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. Os autores deste trabalho gostariam de agradecer ao LABOMAC, UNISANTA, GIA e UFPR pela estrutura, material e recursos fornecidos para tornar o progresso do presente trabalho possível.

Referências

1. Andrade M. C. *et al.*, “First account of plastic pollution impacting freshwater fishes in the Amazon: Ingestion of plastic debris by piranhas and other serrasalmids with diverse feeding habits,” *Environ. Pollut.*, vol. 244, pp. 766–773, 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2018.10.088.
2. Cózar A. *et al.*, “Plastic debris in the open ocean,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 111, no. 28, pp. 10239–10244, 2014, doi: 10.1073/pnas.1314705111.
3. Van Cauwenberghe L., A. Vanreusel, J. Mees, and C. R. Janssen, “Microplastic pollution in deep-sea sediments,” *Environ. Pollut.*, vol. 182, pp. 495–499, 2013, doi: 10.1016/j.envpol.2013.08.013.

4. Avery-Gomm S., S. B. Borrelle, and J. F. Provencher, “Linking plastic ingestion research with marine wildlife conservation,” *Sci. Total Environ.*, vol. 637–638, no. July, pp. 1492–1495, 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.409.
5. Mato Y., T. Isobe, H. Takada, H. Kanehiro, C. Ohtake, and T. Kaminuma, “Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 35, no. 2, pp. 318–324, 2001, doi: 10.1021/es0010498.
6. Logan D. T., “Perspective on ecotoxicology of PAHs to fish,” *Hum. Ecol. Risk Assess.*, vol. 13, no. 2, pp. 302–316, 2007, doi: 10.1080/10807030701226749.
7. Zhang Y. and S. Tao, “Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004,” *Atmos. Environ.*, vol. 43, no. 4, pp. 812–819, 2009, doi: 10.1016/j.atmosenv.2008.10.050.