

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE EM MÚSCULO, FÍGADO E PLASMA DE LARVAS DE *Lithobates catesbeianus* SUBMETIDOS À DOSE SUBLETAL DE CROMO HEXAVALENTE POR 24 OU 48H.

G. A. T. MARTINS¹

F. S. OLIVEIRA²

R. ZIERI³

R. Y. CAMILO⁴

RESUMO

Dentre os contaminantes aquáticos potencialmente tóxicos estão os metais pesados, como o cromo hexavalente, que podem causar diversos efeitos nocivos no comportamento, na fisiologia e malformações congênitas nos animais. Neste contexto, os anfíbios, por apresentarem permeabilidade da pele e ciclo de vida dependente do ambiente aquático, os tornam muito vulneráveis às variações ambientais, dando a esses animais status de marcadores da qualidade do ambiente. Neste trabalho está sendo avaliado o efeito do Cr (VI) sobre o metabolismo energético em larvas de *Lithobates catesbeianus* (Anura) em condições laboratoriais ambientalmente controladas. Para a realização do experimento, além do grupo controle, no qual os girinos forma colocados em água desclorificada, dois outros grupos de animais foram colocados em uma solução aquosa de $K_2Cr_2O_7$ a 18 mg/L. Um por 24 (Cr 24h) e o outro por 48 horas (Cr 48h). Passados estes períodos de exposição, os animais foram amostrados para coleta de fígado, musculo e sangue. Todo este material foi estocado em freezer a $-80^{\circ}C$ até o momento das análises.

PALAVRAS-CHAVE: *Lithobates catesbeianus*; cromo hexavalente; metabolismo

¹ Graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas, IFSP Câmpus Barretos, Av. C-1 250, CEP 14.781-502, Barretos, SP, gabriela_dealmeida@outlook.com

² Mestranda em Educação Profissional – ProfEPT, IFSP, Câmpus Sertãozinho, Rua Américo Ambrósio, 269, CEP 14169-263, Sertãozinho, SP, fabiola_6621@hotmail.com

³ Biólogo, Prof. Doutor, IFSP Câmpus Barretos, Av. C-1 250, CEP 14.781-502, Barretos, SP, rodrigozieri@ifsp.edu.br

⁴ Biólogo, Prof. Doutor, IFSP Câmpus Barretos, Av. C-1 250, CEP 14.781-502, Barretos, SP, rycamilo@ifsp.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Os metais pesados têm despertado grande interesse ambiental, por não serem biodegradáveis, pelo fato de, na maioria das vezes, o meio aquático é o destino final para esses poluentes metálicos (CONDESSA, 2014) e por estarem ligados a uma série de processos deletérios, como neurotoxicidade, distúrbios hematológicos, distúrbios renais, carcinogenicidade, diminuição da fertilidade (RUPPENTHAL, 2013), malformações congênitas, redução na ingestão de alimentos, letargia e diminuição no tamanho (SILVA, 2001) nos animais. Uma vez no ambiente aquático, os metais pesados podem acumular na biota aquática em níveis significativamente elevados (CARDOSO, 2016), causando danos severos nas populações de organismos aquáticos.

Dentre os metais pesados que apresentam uma importância significativa como poluentes, podemos destacar o cromo (Cr), pois, apesar de ocorrer naturalmente em rochas, animais, plantas e no solo, a sua presença nos ambientes aquáticos está fortemente relacionada com fatores antrópicos (CETESB, 2012). Visto que, este metal é utilizado em diversos processos industriais (MIRANDA FILHO et al. 2011). Somado a isto, dentre os íons deste metal, o cromo hexavalente é potencialmente tóxico, visto que é considerado carcinogênico e mutagênico.

De modo geral, os anfíbios podem ser considerados bioindicadores de qualidade ambiental já que possuem seu ciclo de vida intimamente ligado à água e pele permeável (CONDESSA, 2014). O fato da procriação, desova e fase inicial do ciclo de vida dos anfíbios ocorrer em ambiente aquático, torna estes animais passíveis de contaminação direta (DORNELLES, 2013). As larvas de anfíbios, girinos, são particularmente susceptíveis aos efeitos dos metais pesado no ambiente, uma vez que estes podem causar danos fisiológicos que, por sua vez, induz os organismos a apresentarem respostas compensatórias para reduzir sua letalidade (LINDER; GRILLITSCH, 2000; ROWE et al., 2003). A espécie *Lithobates catesbeianus* (rã touro) foi escolhida por apresentar valor econômico e que por sua aquisição não causar impactos negativos nas populações nativas.

Desta forma, alterações nos padrões do ambiente no qual estes animais estão inseridos em função da presença de um agente estressor pode ocasionar diversos tipos de respostas, desde aumento do cortisol, até diminuição de resistência a doenças, deixando o animal mais suscetível a agentes oportunistas como bactérias e fungos (ROCHA et al., 2010). Respostas biológicas a estímulos ambientais também são descritas como fatores responsáveis por alterações nos mecanismos moleculares, mudanças histopatológicas (representando um indicativo de ação cumulativa de estressores exógenos a um organismo específico) e disfunções celulares em

animais expostos a poluentes. Alguns indicadores de estresse podem ser detectados no sangue. O cortisol plasmático e a glicose, por exemplo, são os marcadores mais utilizados hoje e são considerados indicadores precisos do estresse (ROCHA et al., 2010). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a variação das concentrações de glicose hepática e muscular de larvas de *L. catenatus* expostos à uma solução subletal de cromo hexavalente – Cr (VI) – por 24 ou 48 horas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Larvas de rã touro utilizadas foram fornecidas pelo setor de ranicultura da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) câmpus de Jaboticabal. Os exemplares foram levados ao Laboratório de Microscopia e Anatomia Comparada do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP) Campus Barretos, onde foram aclimatados e, posteriormente expostos a solução subletal de Cr (VI). Para a realização do experimento, foram utilizados seis recipientes de vidro de cinco litros cada, nos quais em quatro deles foram colocados três litros de uma solução aquosa de $K_2Cr_2O_7$ a 18 mg/L (NATALE, 2006), e nos outros dois foi utilizado água desclorificada, todos os recipientes foram mantidos em temperatura em torno de 27°C. Em cada recipiente foram colocados três animais (um animal/litro), foram utilizados dois recipientes por grupo, seis animais por tratamento, totalizando 18 animais. Em um dos tratamentos os animais foram mantidos por 24 horas na solução de Cr (VI) (Cr 24h) em outros dois recipientes os girinos foram mantidos por 48 horas em solução semelhante (Cr 48h). Os frascos restantes foram utilizados como controle, totalizando 18 exemplares.

Logo após o período de exposição subletal, os animais foram amostrados para coleta de tecidos e sangue. Primeiramente, os girinos foram puncionados na veia caudal para a coleta de sangue, e imediatamente após este procedimento, foram eutanasiados de acordo com os procedimentos recomendados pelo CONCEA para retirada de músculo e fígado. Os tecidos coletados estão acondicionados em freezer a -80°C. As concentrações de glicose no plasma, no fígado e no músculo foram determinadas utilizando-se o kit Glicose Liquiform da LABTEST® (Ref. 133). O teste estatístico ANOVA General Linear Model foi aplicado seguido de pós-teste de Tukey para comparação dos grupos. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios das concentrações de glicose do músculo, do fígado e do plasma de *L. catenatus* expostos à uma solução subletal Cr (VI) por 24 ou 48 horas estão expressos na Figura 1. Foram observadas mudanças significativas nas concentrações de glicose de todos os tecidos avaliados,

sendo que as maiores concentrações de glicose foram observadas no grupo que permaneceu exposto cromo por 24 horas e as menores no que ficou exposto por 48 horas.

A variação da glicemia é um dos indicadores clássicos de respostas fisiológicas em estudos de estresse. A hiperglicemia é geralmente observada em animais expostos a algum tipo de estímulo adverso. Isto possivelmente deva ocorrer para atender a maior demanda de energia necessária para escapar ou para enfrentar uma situação adversa (CRESPI; DENVER, 2005). Desta forma, o aumento da glicemia nos tecidos avaliados do grupo Cr 24h, possivelmente, tenha ocorrido em função da exposição ao cromo como uma tentativa de fornecer energia para lidar com a intoxicação. A manutenção da glicemia sanguínea é fundamental a muitos tecidos, tais como o nervoso, por utilizarem preferencialmente glicose como fonte energética. Conforme mostrado por Dorneles e Oliveira (2014) em rã touro submetidas aos herbicidas atrazina, glifosato e quinclorac, o tecido hepático é o responsável pela manutenção glicêmica a partir da glicogenólise ou da gliconeogênese.

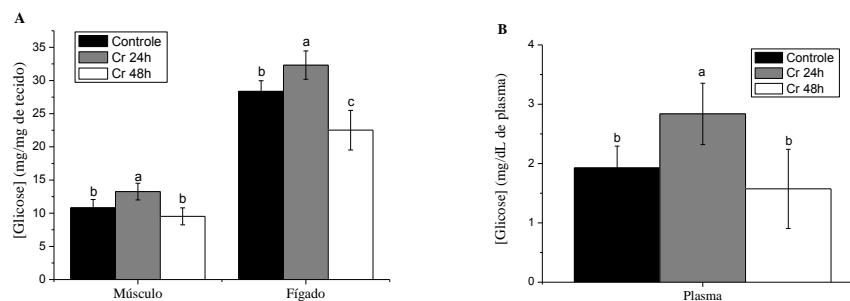


FIGURA 1. Os valores médios das concentrações de glicose do músculo, do fígado e do plasma de *L. catenbeianus* expostos à uma solução subletal Cr (VI) por 24 ou 48 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam médias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$

No caso da diminuição significativa das concentrações hepáticas de glicose do grupo Cr 48h (Figura 1A), possivelmente ocorreram devido a diminuição significativa dos níveis de glicogênio hepático dos animais estudados, visto que uma das respostas ao estresse consiste no rápido consumo dos níveis de glicogênio para atender às demandas de energia aumentadas e auxiliar os processos metabólicos envolvidos na desintoxicação de poluentes (ALKAHEN, 1996).

4. REFERÊNCIAS

ALKAHEN, H.F. Effects of lethal and sublethal concentrations of lindane on the behavior and energy reserves of the freshwater fish, *Oreochromis niloticus*. J King Saud Univ 8:153–164, 1996.

CRESPI E.J.; DENVER R.J.. Roles of stress hormones in food intake regulation in anuran amphibians throughout the life cycle. Comp. Biochem. Physiol. A 141:381-390. 2005.

CONDESSA, S. S.. **Estresse oxidativo causado pelo cromo hexavalente e ação da vitamina C em *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei: Characidae) machos adultos e potencial biossortivo da casca de coco verde (*Cocos nucifera* L.)** – 2014. 204 f. Tese (Doutorado em Análises quantitativas e moleculares do Genoma; Biologia das células e dos tecidos) - Univ. Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

DORNELLES, Michele Flores. **Efeito dos herbicidas atrazina, glifosato e quinclorac sobre a composição bioquímica, a peroxidação lipídica e a sobrevivência de girinos de *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802)**. 2013. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

DORNELLES, M.F.; OLIVEIRA, G.T. Effect of Atrazine, Glyphosate and Quinclorac on Biochemical Parameters, Lipid Peroxidation and Survival in Bullfrog Tadpoles (*Lithobates catesbeianus*), Arch. Environ. Contam Toxicol (2014) 66: 415.

MIRANDA FILHO, A. L.; et. al. Cromo hexavalente em peixes oriundos da Baía de Sepetiba no Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação de risco à saúde humana. **Ambi-Agua**, v. 6, n. 3, p. 200-209, 2011.

LINDER, G.; GRILLITSCH, B. **Ecotoxicology of metals**. In: Sparling DW, Linder G, Bishop CA (eds) Ecotoxicology of amphibians and reptiles. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Press, Pensacola, Florida, 2000.

MIRANDA FILHO, A. L.; MOTA, A. K. M.; CRUZ, C. C.; MATIAS, C. A. R; FERREIRA, A. P. Cromo hexavalente em peixes oriundos da Baía de Sepetiba no Rio de Janeiro, Brasil: uma avaliação de risco à saúde humana. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 6, n. 3, p. 200-209, 2011.

ROCHA, Guilherme C. et al. Physiological response of American bullfrog tadpoles to stressor conditions of capture and hypoxia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 10, p. 891-896, 2010.

ROWE, C.L; HOPKINS, W.A.; COFFMAN, V.R. Failed recruitment of Southern toads (*Bufo terrestris*) in a trace element-contaminated breeding habitat: direct and indirect effects that may lead to a local population sink. **Arch Environ Contain Toxicol** 40:399–405, 2001.

RUPPENTHAL, Janis Elisa. Toxicologia. Universidade Federal de Santa Maria: Rede e-Tec Brasil, 2013. Disponível em: http://estudio01.proj.ufsm.br/cadernos_seguranca/sexta_etapa/toxicologia.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2016.