

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

## **EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO MATERIAL PARTICULADO FINO (MP2,5) EM ZEBRAFISH : UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA<sup>1</sup>**

### **EFFECTS OF EXPOSURE TO FINE PARTICULATE MATTER (PM2.5) IN ZEBRAFISH: A BIBLIOGRAPHIC REVIEW**

**Larissa Katiely Bohn da Silva<sup>2</sup>, Pauline Brendler Goettens Fiorin<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> PESQUISA DESENVOLVIDA NA DISCIPLINA DE PROJETO DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO NO CURSO DE FISIOTERAPIA DA UNIJUÍ

<sup>2</sup> ACADÊMICA DO CURSO DE FISIOTERAPIA - UNIJUÍ

<sup>3</sup> DOCENTE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA - UNIJUÍ

## **INTRODUÇÃO**

O zebrafish (*Danio rerio*), também conhecido como peixe “paulistinha” ou peixe-zebra, pertence à família Cyprinidae, e é classificado como um pequeno teleosteo, conhecido primeiramente por seu relevante potencial no ramo ornamental. Desde o final da década de 60, ele vem sendo utilizado como organismo modelo em diversas áreas das ciências, sendo um importante objeto de estudo, que gradativamente toma o lugar de roedores dentro de linhas de pesquisa nacionais e, principalmente, internacionais (SILVEIRA et al., 2012).

A utilização do peixe-zebra nos mais diversos estudos comprova tamanha versatilidade e praticidade que o mesmo oferece, o que justifica o aumento exacerbado de publicações utilizando este modelo animal. Outro fator importante se deve ao fato de o zebrafish apresentar uma enorme similaridade anatômica com outros vertebrados durante seu estágio embrionário, sendo passível de utilização como modelo para o estudo de tópicos relacionados à biologia do desenvolvimento (MARSIGLIA, 2014).

Por serem animais que possuem grande facilidade em absorver e metabolizar os compostos que são diretamente adicionados na água, seu meio de vida, e acumulá-los em diferentes tecidos, principalmente no Sistema Nervoso Central (SANT’ANNA, 2009), o zebrafish também se torna um ótimo indicador de mutações e doenças. Não menos importante, a quantidade de material bibliográfico descrevendo a exposição de zebrafish a substâncias tóxicas também vem crescendo significativamente. Estudos que abordam o desenvolvimento embrionário (KUMAR et al., 2019) ou os efeitos em peixes adultos (GERLAI et al., 2000) são os mais recentes e comuns no meio científico atual, abrangendo principalmente os efeitos bioquímicos e genotóxicos de fármacos (ABREU, 2014), etanol (BILLOTA et al., 2004) e poluentes ambientais, dentre eles poluentes atmosféricos (FONSECA, 2018).

A poluição atmosférica pode ser definida como a presença de substâncias estranhas na atmosfera, resultantes da atividade humana ou de processos naturais, em concentrações suficientes para interferir direta ou indiretamente na saúde, segurança e bem estar dos seres vivos (ELSON, 1992). Hoje, aproximadamente 50% da população do planeta vivem em cidades e aglomerados urbanos e estão expostas a níveis progressivamente maiores de poluentes do ar. Entre os tipos de poluentes presentes em nossa atmosfera, encontramos: material gasoso, como ozônio (O<sub>3</sub>), dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>) e aerossóis ácidos, monóxido de carbono (CO) e óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>), e material

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

particulado, uma mistura de partículas líquidas e sólidas em suspensão no ar (CANÇADO, et al., 2006).

O Material Particulado (MP) pode ser dividido em dois grupos: o que possui partículas grandes, com diâmetros entre 2,5 e 30  $\mu\text{m}$ , emitidos através de combustões descontroladas, dispersão mecânica do solo ou outros materiais da crosta terrestre; e partículas pequenas, com diâmetro menor que 2,5  $\mu\text{m}$ , denominado material particulado fino (MP2.5), emitidas pela combustão de fontes móveis, que incluem a maioria das formas de transporte (automóveis, caminhões e aviões), ou fontes estacionárias (industriais e habitacionais), que devido ao pequeno diâmetro, podem atingir as porções mais inferiores do trato respiratório, e apresentar efeitos sistêmicos (CANÇADO, et al., 2006).

O presente trabalho busca realizar uma revisão bibliográfica que tem como objetivo identificar as possíveis alterações ocorridas no organismo do zebrafish sob o efeito da exposição ao poluente atmosférico - material particulado fino (MP2.5).

**Palavras-chave:** peixe-zebra; poluente; toxicidade; fontes móveis;

**Keywords:** zebrafish; pollutant; toxicity; mobile sources;

## METODOLOGIA

Para a elaboração deste estudo, foi realizada busca de artigos científicos, publicados nas bases de dados Scielo e PubMed, entre os anos de 2015 e maio de 2020, utilizando descritores em inglês, como: “zebrafish”, “particulate matter” e “PM2.5”.

Todos os oito trabalhos apresentados seguiram corretamente as normas e legislação para alojamento e utilização do zebrafish, bem como aspectos relacionados ao manejo. Com relação aos critérios para a inclusão de estudos à pesquisa integram-se: artigos recentes, experimentais, em que houvesse a exposição de MP2,5 em espécies de zebrafish, com abordagem dos efeitos sistêmicos, orgânicos e/ou metabólicos dessa interação. Como critérios de exclusão consideramos estudos de revisão, ou que não apresentasse modelo de exposição ao MP2,5 em zebrafish, e seus efeitos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição à poluição por partículas acarreta uma variedade de problemas, sendo eles: morte prematura em indivíduos com doença cardíaca ou pulmonar; ataques cardíacos não fatais; arritmia cardíaca; asma; função pulmonar diminuída; aumento dos sintomas respiratórios, como irritação das vias aéreas, tosse ou dificuldade para respirar (EPA, 2019). Os mecanismos pelo qual estes efeitos são induzidos ou potencializados vem sendo elucidados em inúmeros estudos experimentais.

Visto isso, buscamos realizar uma revisão bibliográfica dos efeitos desenvolvidos no modelo experimental de Zebrafish pelo poluente atmosférico em estudo. Duan e colaboradores (2017) buscaram avaliar a toxicidade de MP2,5 em múltiplos órgãos do peixe-zebra. Os peixes foram divididos em grupos com diferentes doses de poluente, entre elas 25, 50, 100, 200 e 400  $\mu\text{g/ml}$ . Constatou-se morte embrionária a partir de 200  $\mu\text{g/ml}$ , resultando então na exclusão do grupo 400  $\mu\text{g/ml}$ .

**Evento:** XXVIII Seminário de Iniciação Científica

**ODS:** 3 - Saúde e Bem-estar

Com os resultados obtidos concluiu-se que o MP2,5 induziu a toxicidade embrionária e cardíaca de maneira dependente da dose e do tempo de exposição, também visto no estudo de Zhang et al. (2018), além da indução de uma má formação cardíaca e hepática, edema de pericárdio (mais evidente na maior concentração) e alteração da frequência cardíaca, que apresentou redução conforme diminuição das doses. Fisiologicamente, a MP2,5 atuou com um efeito inibitório na angiogênese, alterou estruturalmente os axônios, além de que, os genes envolvidos na função cardíaca e função neural foram marcadamente reduzidos, enquanto os genes que regulam a função hepática foram significativamente aumentados (Zhang et al., 2018).

No estudo publicado por Kim et al. (2015), constou-se dois tipos de exposição ao poluente: a microinjeção de MP2,5 em embriões de peixe-zebra, que induziu a mortalidade severa acompanhada de comprometimento do desenvolvimento esquelético, e o extrato aquoso de MP2,5, que induziu o estresse oxidativo como precursor da toxicidade cardiovascular e toxicidade embrionária.

Em trabalho publicado por Massarky et al. (2015), o Material Particulado Fino (MP2,5) presente em cigarros aumentou a mortalidade, atrasou incubação e aumentou a incidência de deformidades no peixe-zebra. Assim como, aumentou a incidência de hemorragia e interrompeu a angiogênese dos principais vasos cerebrais, como no segundo estudo apresentado (Zhang et al., 2018). A exposição ao MP2,5 também reduziu o comprimento do corpo larval, diminuiu a frequência cardíaca e reduziu a taxa metabólica. Biomarcadores de metabolismo xenobiótico e o estresse oxidativo também foram afetados.

Estudo de Stevens e colaboradores (2018) teve como objetivo examinar a utilidade das respostas locomotoras do peixe-zebra na avaliação da toxicidade de MP2,5 e suas frações químicas, e também descobrir seus mecanismos de ação. A administração da acroleína, uma fração do material particulado, escolhido para esse estudo, causou um efeito imediato na resposta locomotora dos peixes, sendo diretamente ligada a dose utilizada. Em grupos em que a dose foi maior a resposta locomotora hiperativa aconteceu nos primeiros 10 minutos de tratamento. Contudo, nos próximos 50 minutos de exposição, a resposta locomotora dos grupos tratados com menor dose aumentou significativamente com relação ao grupo controle.

O estudo publicado por Roper e colaboradores (2020) teve como objetivo examinar os efeitos de MP2,5 em modelos experimentais de zebrafish, expostos. Os a uma dose de 200 µg/mL, o que impactou a mortalidade, como já visto por Duan e colaboradores (2017), alteração dos parâmetros morfológicos e, também, comportamentais. Esses fatores associados, fizeram com que um número insuficiente de animais sobrevivessem para se avaliar outros pontos.

Os últimos dois estudos analisados tinham como objetivo avaliar se o uso do Ácido Fólico (AF) era capaz de impedir ou atenuar alterações orgânicas causadas pela indução de MP2.5. O primeiro deles, publicado por Jiang et al. (2019), identificou um aumento significativo de efeitos cardíacos e a diminuição da frequência cardíaca, sendo esses atenuados por AF na dose de 0,05 µM. A MOE (matéria orgânica extraível) do MP2.5, substância utilizada nos dois estudos, diminuiu os níveis de expressão de genes envolvidos na regulação da metilação do DNA, que foram atenuados por AF.

Já no estudo publicado por Yue e colaboradores (2017), a suplementação com AF inibiu a superexpressão induzida pela MOE de AhR (Ahr2) e seus genes alvo. Além de mostrar que a suplementação aliviou os defeitos cardíacos em embriões de zebrafish induzidos ao poluente.

Evento: XXVIII Seminário de Iniciação Científica  
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

## CONCLUSÃO

Conclui-se então que, o poluente atmosférico, material particulado fino (MP2.5), como apresentado nos estudos mencionados, é capaz de causar tanto efeitos sistêmicos, levando a mortalidade, quanto orgânicos, em modelo experimental de peixes-zebra, podendo os mesmos serem diretamente relacionados com a dose e o tempo de exposição.. Outro detalhe importante é que, como foi apresentado nos dois últimos estudos, a utilização do ácido fólico como inversor dos efeitos causados pelo poluente pode ser, por mais que minimamente, efetivo.

## REFERÊNCIAS

ABREU, M. S. DE, KOAKOSKI, G., FERREIRA, D., OLIVEIRA, T. A., ROSA, J. G. S. DA, GUSSO, D., ... BARCELLOS, L. J. G. (2014). Diazepam and Fluoxetine Decrease the Stress Response in Zebrafish. PLoS ONE, 9(7), e103232. doi:10.1371/journal.pone.0103232

BILOTTA, J., BARNETT, J. A., HANCOCK, L., & SASZIK, S. (2004). Ethanol exposure alters zebrafish development: A novel model of fetal alcohol syndrome. Neurotoxicology and Teratology, 26(6), 737–743. doi:10.1016/j.ntt.2004.06.011

CANÇADO, J. E. D.;BRAGA, A.; PEREIRA L. A. A.; ARBEX, M. A.; SALDIVA, P. H. N.;SANTOS, U. P.. Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica. J Bras Pneumol. 2006;32(Supl 1):S5-S11.

DUAN, Junchao; HU, Hejing; ZHANG, Yannan; et al. Multi-organ toxicity induced by fine particulate matter PM2.5 in zebrafish (Danio rerio) model. Chemosphere, v. 180, p. 24–32, 2017.

ELSON, D.M. Atmospheric pollution: a global problem. 2nd ed. Oxford: Blackwell; 1992. p.3.

EPA. Particulate Matter (PM-10). Disponível em: <<http://www.epa.gov/airtrends/aqtrnd95/pm10.html>>.

FONSECA, R. S. (2018). Exposição de embriões e larvas de zebrafish a compostos bisfenólicos para elucidação de mecanismos neurotoxicológicos.

GERLAI, R., LAHAV, M., GUO, S., & ROSENTHAL, A. (2000). Drinks like a fish: zebra fish (Danio rerio) as a behavior genetic model to study alcohol effects. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 67(4), 773–782. doi:10.1016/s0091-3057(00)00422-6

JIANG, Yan; LI, Jianxiang; REN, Fei; et al. PM2.5-induced extensive DNA methylation changes in the heart of zebrafish embryos and the protective effect of folic acid. Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987), v. 255, n. Pt 3, p. 113331, 2019.

KIM, Jae-Yong; LEE, Eun-Young; CHOI, Inho; et al. Effects of the Particulate Matter 2.5 (PM2.5) on Lipoprotein Metabolism, Uptake and Degradation, and Embryo Toxicity. Molecules and Cells, v. 38, n. 12, p. 1096–1104, 2015.

KUMAR, N., WILLIS, A., SATBHAI, K., RAMALINGAM, L., SCHMITT, C., MOUSTAID-

**Evento:** XXVIII Seminário de Iniciação Científica

**ODS:** 3 - Saúde e Bem-estar

MOUSSA, N., & CRAGO, J. (2020). Developmental toxicity in embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*) exposed to strobilurin fungicides (azoxystrobin and pyraclostrobin). *Chemosphere*, 241, 124980. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124980

MARSIGLIA, Júlia Daher Carneiro; PEREIRA, Alexandre Costa. Hypertrophic Cardiomyopathy: How do Mutations Lead to Disease?. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, v. 102, n. 3, p. 295-304, Mar. 2014. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066782X2014000300012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066782X2014000300012&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 15 Out. 2019. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20140022>.

MASSARSKY, Andrey; JAYASUNDARA, Nishad; BAILEY, Jordan M.; et al. Teratogenic, bioenergetic, and behavioral effects of exposure to total particulate matter on early development of zebrafish (*Danio rerio*) are not mimicked by nicotine. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 51, p. 77–88, 2015.

ROPER, Courtney; PEREZ, Allison; BARRETT, Damien; et al. Workflow for Comparison of Chemical and Biological Metrics of Filter Collected PM2.5. *Atmospheric Environment (Oxford, England: 1994)*, v. 226, 2020.

SILVEIRA, T R. DA; SCHNEIDER, A. C.; HAMMES, T. O. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. *Ciência e Cultura*, v. 64, n. 2, p. 4–5, 2012.

SANT'ANNA, M. C. B. Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo para estudo da toxicidade induzida pelo ferro. 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

STEVENS, Joey S.; PADILLA, Stephanie; DEMARINI, David M.; et al. Zebrafish Locomotor Responses Reveal Irritant Effects of Fine Particulate Matter Extracts and a Role for TRPA1. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, v. 161, n. 2, p. 290–299, 2018.

YUE, Cong; JI, Cheng; ZHANG, Hang; et al. Protective effects of folic acid on PM2.5-induced cardiac developmental toxicity in zebrafish embryos by targeting AhR and Wnt/ $\beta$ -catenin signal pathways. *Environmental Toxicology*, v. 32, n. 10, p. 2316–2322, 2017.

ZHANG, Yun; LI, Saiyu; LI, Juanjuan; et al. Developmental toxicity induced by PM2.5 through endoplasmic reticulum stress and autophagy pathway in zebrafish embryos. *Chemosphere*, v. 197, p. 611–621, 2018.

**Parecer CEUA:** 84431118200005350