



RESULTADOS PRELIMINARES DO EFEITO DA AGUA DA REPRESA BILLINGS NA TIREÓIDE DAS TILÁPIAS

Anna Carolina Ribeiro Duarte^{1*}
João Carlos Shimada Borges²

RESUMO - A presença de disruptores endócrinos em represas e mananciais e os conseqüentes problemas ambientais e de saúde pública têm sido relatados, nesse contexto o presente trabalho teve como objetivo evidenciar as alterações morfológicas na tireoide de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas às águas da Represa Billings. Para alcançar esse objetivo 20 tilápias foram armazenadas por 5 meses em dois aquários, sendo 10 peixes em um com a água proveniente da represa Billings e 10 peixes em um aquário com água mineral (controle). Após esse período os peixes foram sacrificados por secção medular para extração da tireóide. Foram realizadas análises histológicas das mesmas em lâminas coradas com hematoxilina/eosina e análises morfométricas de foto digitalizações (1000X e 400X), utilizando-se o programa *Image J*, dos folículos tireoideanos (área, perímetro, fator de circunferência, maior e menor diâmetro). Nas análises preliminares de seis peixes (n=6) expostos a água da represa Billings, observou-se em 8 folículos de cada exemplar, a presença de infiltrado linfocitário e também maior área e perímetro dos folículos ($26.969.881 \pm 13.507.948,4\mu\text{m}^2$ X $10.957.141 \pm 7.286.471,01\mu\text{m}^2$ e $615.793 \pm 182.485,39\mu\text{m}$ X $387.122 \pm 136.426,80\mu\text{m}$ para $p = 0,05$). Esses resultados indicam que a tireóide de tilápias do Nilo pode ser um biomarcador para avaliação de águas contaminadas.

Palavras-chave: biomarcador; Billings; disruptores endócrinos; tilápia; tireoide.

¹ Mestranda do Curso de Pós-graduação em Saúde Ambiental, Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo, SP, Brasil. *autor para correspondência: annacarolrb@hotmail.com

² Docente do Curso de Pós-Graduação em Saúde Ambiental e Graduação em Medicina Veterinária, Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo, SP, Brasil.



Effect of water from the Billings reservoir on tilapia thyroid glands-preliminary results

ABSTRACT - The presence of endocrine disruptors in reservoirs and water sources has been related to environmental impact and public health issues. In this context, the objective of this study is to show morphological changes in the thyroid gland of the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to the water from Billings Reservoir. Tilapia individuals were kept in two tanks, ten fishes in water from the Billings Reservoir and 10 fishes in mineral water (control). All specimens were sacrificed by medullary section after 5 months treatment period for thyroid collection. Histological analysis of Hematoxylin/Eosin stained glass slides and morphometric study of photomicrograph scans (1000X and 400X) of thyroid follicles (area, perimeter, circumference factor, major and minor diameter) were performed using *Image J* software. Preliminary study of six fishes (n = 6) from the Billings Reservoir and analysis of 8 follicles per individual showed the presence of lymphocytic infiltrate and larger area and perimeter of follicles ($26,969,881 \pm 13,507,948, 4\mu\text{m}^2 \times 10,957,141 \pm 7,286,471,01\mu\text{m}^2$ and $615,793 \pm 387,122 \pm 182.485,39\mu\text{m} \times 136.426,80\mu\text{m}$ to $p = 0.05$). These results indicate that the Tilapia thyroid can be a biomarker for assessment of water contamination.

Keywords: biomarker; thyroid gland; Billings; Tilapia; endocrine disruptors.

INTRODUÇÃO

Com o processo de modernização, algumas consequências surgiram, incluindo as desigualdades sociais, poluição e degradação ambiental; a crescente concentração de poder econômico e político; a industrialização acelerada e o uso de novos métodos tecnológicos na agricultura, fez com que a espécie humana estivesse exposta a uma série de riscos decorrentes dos fatores ambientais envolvidos: fatores psicológicos, fatores acidentais, fatores biológicos, fatores físicos e fatores químicos (Amorim 2003). A Represa Billings ocupa uma área de 582,8 km de bacia hidrográfica sendo, atualmente, o maior reservatório de água da Região Metropolitana e São Paulo, tendo um espelho de água de 108km, correspondendo a 18% da área total. A represa passou a receber, a partir da década de 50, toda a água disponível no Alto Tietê com a reversão por meio do canal do Rio Pinheiros contribuindo com a aceleração da eutrofização e contaminação do reservatório.



Para avaliar impactos dos poluentes na qualidade ambiental é pertinente que sejam mensurados os efeitos que estas substâncias causam nos organismos vivos destes ecossistemas (Freire et al. 2003). A avaliação da exposição, associada aos conhecimentos relativos aos efeitos na saúde e os limites considerados seguros, permite estabelecer as prioridades e as formas de intervenção efetiva para proteger uma população dos riscos de poluição ambiental (Amorim 2003). A necessidade de se detectar e avaliar o impacto das substâncias poluentes, especialmente em concentrações baixas, subletais, no monitoramento da qualidade ambiental, levou à avaliação e medição de uma gama de respostas biológicas em diversas espécies (Freire et al. 2003). Os biomarcadores auxiliam nesse sentido. O exame histopatológico é reconhecido cada vez mais como uma ferramenta valiosa para a avaliação no campo do impacto de poluentes ambientais em peixes. Lesões específicas que ocorrem nos órgãos de peixes expostos às substâncias tóxicas sob condições de laboratório ajudam a identificar biomarcadores de exposição (Jesus 2008).

O peixe é usualmente considerado como um biomarcador de fácil acesso e que serve como um bom indicador de poluição no meio aquático (Geven et al. 2007). Não podemos esquecer que o peixe também serve como fonte de alimentação para nós, podendo até, nesse caso, também causar algum dano à nossa saúde. Podemos observar essas alterações nos peixes, pois são animais que fazem respiração, osmoregulação e excreção, depuração, utilizando a água (Power 2001).

Algumas substâncias são consideradas interferentes endócrinos, ou seja podem interferir no funcionamento natural do sistema endócrino de espécies animais, incluindo os seres humanos. Esses interferentes endócrinos podem causar alteração na tireoide (Brown 2004).

Na Represa Billings são jogados muitos resíduos de diversos tipos. Assim, é esperado encontrar alteração histológica na tireóide da tilápia que foi exposta a água da Billings.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho foram utilizadas 20 tilápias que foram divididas em dois tanques, até o momento foram processados 6 exemplares. Esses tanques foram nomeados como A e B. No tanque A (grupo experimental) foi colocado água da Represa Billings e no tanque B (grupo controle) água mineral de fonte conhecida. Antes de iniciar o trabalho, as águas de ambos os tanques foram analisadas (análise



físico-químico) em laboratório, onde não foi encontrada nenhuma alteração na análise da água.

No tanque A (água da Billings) foram colocadas 10 tilápias com peso $13\pm 5g$, e no tanque B (água mineral) foram colocadas 10 tilápias com peso $17\pm 5g$, utilizadas como controle. Esses peixes ficaram expostos a essas águas por 5 meses, para posteriormente realizar a extração da tireoide. A tireoide foi extraída e fixada no formol. Após a fixação do material, ela foi processada e preparada as lâminas com o corte histológico. Os peixes foram eutanasiados por secção medular após anestesia com solução de cloreto de magnésio (10%),

Todos os exemplares estiveram as tireóides fotografadas e analisadas pelo programa *Image J*. Os parâmetros analisados nos folículos tireoidianos das tilápias, através do programa *Image J*, foram: área, perímetro, circularidade, menor diâmetro e maior diâmetro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Numerosos produtos químicos ambientalmente relevantes, incluindo os hidrocarbonetos policlorados, policíclicos, pesticidas organoclorados aromáticos, fenóis, esteroides sexuais, entre outros, podem exercer efeitos agudos ou crônicos na tireoide de peixes teleósteos, como a tilápia (Brown 2004). Nossos resultados preliminares (Figura 1 e Tabelas 1 e 2) correspondem, uma vez que os peixes expostos às águas da Billings apresentaram maior área dos folículos tireoideanos. A tireoide do peixe pode ser usada, portanto como biomarcador para exposição a poluentes ambientais.

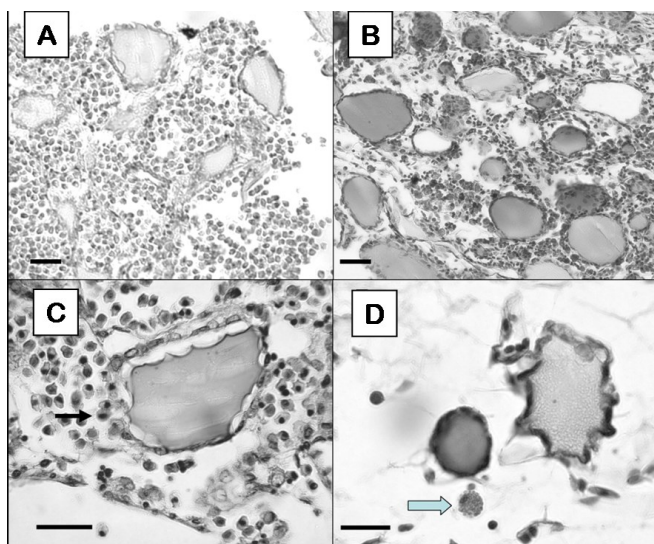


Figura 1 – Fotomicrografias de folículos tireoideanos de tilápias do Nilo, em A e C, observam-se os folículos de tilápias exposta a água da Billings, em A verifica-se grande infiltrado linfocitário e em C nota o colóide retraído e a presença de uma célula eosinofílica (seta escura). Em B e D observam-se folículos do controle onde se vê menor infiltrado em B e célula eosinofílica em D (seta clara), (hematoxilina/eosina, barra de escala = 50 μm).

Tabela 1 - Parâmetros morfométricos avaliados em folículos tireoideanos de *O.niloticus* expostos nas águas da represa Billings e água mineral (controle).

Análise morfométrica de folículos tireoideanos de <i>O.niloticus</i> expostos às águas da represa Billings e água mineral por cinco meses										
tratamento	BILLINGS					ÁGUA MINERAL				
peixe	Área μm^2	Perímetro μm	Circularidade	Menor \emptyset μm	Maior \emptyset μm	Área μm^2	Perímetro μm	Circularidade	Menor \emptyset μm	Maior \emptyset μm
1	7113751	347783	0,74	374242	595455	21970868	617367	0,72	256897	131034
	12713499	427338	0,88	501515	219697	18399227	505639	0,90	550000	153448
	3764348	262935	0,68	233333	430303	14785226	472262	0,83	1096552	184448
	6707415	324014	0,80	371212	10606	26259661	625751	0,84	956897	525862
	2816804	230335	0,67	98485	142424	9328181	365012	0,88	387931	475862
	40480372	767606	0,86	769697	519697	4790428	261377	0,88	1053448	796552
	36060032	756470	0,79	612121	324242	5483799	284181	0,85	182759	351724
	41259757	787462	0,84	324242	459091	6193520	353924	0,62	5172	536207
2	29691804	656051	0,87	245455	780303	12327586	439748	0,80	110345	493103
	18648416	545287	0,79	72727	519697	4476070	263564	0,81	144828	658621
	33959481	698661	0,87	46970	325758	11235880	412497	0,83	691379	489655
	43251263	816489	0,82	53030	634848	5231124	289875	0,78	931034	243103
	44829545	800080	0,88	384848	283333	2923603	223038	0,74	1029310	682759
	32684803	733717	0,76	634848	356061	17428418	489998	0,91	38750	121875
	31771120	705306	0,80	813636	656061	13414648	440402	0,87	264375	213125
	31457185	653013	0,93	518182	406061	14127051	459369	0,84	167500	18750
3	20469467	562242	0,81	145455	477273	20038184	564966	0,79	5625	78125
	37992998	780292	0,78	381818	406061	24100391	605531	0,83	205625	150000
	34194215	725203	0,82	671212	266667	2101270	175066	0,86	100625	308125
	43352847	801995	0,85	837879	495455	6987305	338167	0,77	23125	105625
	23869949	616396	0,79	289394	724242	5178711	278895	0,84	192500	103125
	35872360	704066	0,91	678788	784848	9674512	386717	0,81	288125	82500
	12351855	436597	0,81	170625	158125	3096973	213673	0,85	174375	186250
	21963867	639686	0,68	370000	311875	3418750	223918	0,86	315625	211250
média	26969881	615793	0,81	309988	428674	10957141	387122	0,82	382200	304215
desvio padrão	13507948,43	182485,3917	0,068757174	247442,5035	202871,2379	7266471,01	136426,8083	0,063573634	367978,154	222277,0051



Tabela 2 - Estatística (teste-t de student, $\alpha = 0,05$) dos parâmetros morfométricos avaliados em folículos tireoideanos de *O. niloticus* expostos nas águas da represa Billings e água mineral (controle), na qual de observa diferenças significativas para área e perímetro.

	Teste-t: duas amostras em par para médias									
	ÁREA		PERÍMETRO		CIRCULARIDADE		MENOR ϕ		MAIOR ϕ	
	BILLINGS	CONTROLE	BILLINGS	CONTROLE	BILLINGS	CONTROLE	BILLINGS	CONTROLE	BILLINGS	CONTROLE
Média	26969881,38	10957141,08	615792,6667	387122,375	0,809375	0,821958	399988,0833	382200,0833	428674,2917	304215,125
Variância	1,82465E+14	5,30927E+13	33300918192	18612274027	0,004728	0,004042	61227792529	1,35408E+11	41156739159	4,9407E+10
Observações	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
Correlação de Pearson	-0,390322387		-0,367660023		-0,16639		-0,151471941		-0,191417551	
Hipótese da diferença de média	0		0		0		0		0	
gl	23		23		23		23		23	
Stat t	4,438344173		4,22752367		-0,60967		0,184033025		1,856813558	
P(T<t) uni-caudal	9,43912E-05		0,000159682		0,274028		0,427800229		0,038095826	
t crítico uni-caudal	1,713871517		1,713871517		1,713872		1,713871517		1,713871517	
P(T<t) bi-caudal	0,0001*		0,0003*		0,548057		0,855600458		0,076191651	
t crítico bi-caudal	2,068657599		2,068657599		2,068658		2,068657599		2,068657599	

Porém os mecanismos da tireóide ainda são desconhecidos, pois podem responder indiretamente, e nesse caso pode prejudicar a produção hormonal. Muitas dessas alterações da tireóide podem alterar o crescimento do peixe. Portanto, os próximos trabalhos deverão ser voltados a alterações da tireóide relacionado com o crescimento, reprodução e desenvolvimento dos peixes.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados preliminares conclui-se que as perspectivas de uso dos folículos tireoideanos de *O. niloticus* como biomarcadores para águas contaminadas são evidentes, uma vez que a água da Represa Billings causa alteração na tireóide desse peixe. O fato das tilápias viverem na água, e que nós, seres humanos, além de ingerir essa água, também podemos ingerir esses peixes tornam os resultados extremamente relevantes.

REFERÊNCIAS

- Amorim, O. Biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambiental. Rev Bras Epidemiol. 2003;6: (1).
- Brown, C. Contaminant effects on the teleost fish thyroid, Environm Toxic and Chem. 2004:(3).
- Geven EJ, Nguyen NK, van den Boogaart M, Spanings FA, Flik G, Klaren PH. Comparative thyroidology: thyroid gland location and iodothyronine dynamics in Mozambique tilapia and common carp. The J Experim Biol. 2007.



Freire MM, Santos VG, Ginuino IOSF, Arias ARL. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. Oecol Bras. 2008; 12(3):347-354, 2008.

Jesus, Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). Oecol Brasil. 2008; 12(4): 680-693.

Power DM, Llewellyn L, Faustino M, Nowell MA, Björnsson BT, Einarsdottir IE, Canario AV, Sweeney GE. Thyroid hormones in growth and development of fish. Comp Biochem Physiol. 2001;1(1):130.