

AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO ÍNDICE TERATOGENICO DA 6-AMINONICOTINAMIDA PARA EMBRIÕES DE *Lithobates catesbeianus**

Fernanda Menezes FRANÇA^{1,3}, Adriana Sacioto MARCANTONIO², Cristina VIRIATO¹,
Sergio Henrique C. SCHALCH², Cláudia Maris FERREIRA¹

¹ Instituto de Pesca

² APTA – Polo Regional do Vale do Paraíba

³ Endereço/Address: Centro de Pesquisa de Aquicultura – Instituto de Pesca – APTA – SAA, Av. Francisco Matarazzo, 455 – CEP: 05.001-970 – São Paulo – SP – Brasil, e-mail: fernanda_ranicultura@yahoo.com.br

* Apoio financeiro: CNPq: processo 151982/2018-0 e FAPESP: processo 2014/07293-6

Palavras chave: Anfíbio; FETAX; ecotoxicologia; controle positivo

INTRODUÇÃO

O FETAX (Frog embryo teratogenesis assay – *Xenopus*) normatizado pela ASTM E 1439-98 (2012) é um bioensaio usado para determinar o potencial teratogênico de produtos químicos em embriões de *Xenopus laevis*. Embora tenha sido projetada para esta espécie, a norma permite o uso de espécies alternativas. A rã-touro, *Lithobates catesbeianus*, tem se mostrado um excelente modelo experimental e uma poderosa ferramenta nos estudos da poluição da água sobre organismos aquáticos.

O Índice Teratogênico (IT) é utilizado no ensaio FETAX para dimensionar potencial teratogênico das substâncias. Este índice é obtido dividindo a CL₅₀ (embrioletalidade) pela CE₅₀ (para a indução de malformação). Um ponto de corte de IT = 1,5 é empregado para classificar as substâncias embriotóxicas em claramente teratogênicas (IT ≥ 1,5), ou fracamente ou não teratogênicas (IT ≤ 1,5). Os testes de sensibilidade devem ser realizados para verificar a sensibilidade dos animais e avaliar a qualidade dos dados de laboratório, como uma medida de controle de qualidade. A 6-aminonicotinamida é recomendada como substância de referência para o teste FETAX por ser altamente teratogênica para *Xenopus laevis* (BANTLE *et al.*, 1996). O objetivo deste trabalho foi determinar o Índice Teratogênico da 6-aminonicotinamida para embriões de *Lithobates catesbeianus*, para que possa ser utilizado como controle positivo em testes teratogênicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os testes foram realizados no Ranário Experimental do Setor de Aquicultura do Pólo Regional do Vale do Paraíba – APTA/SAA, Pindamonhangaba, SP. Após a indução hormonal

de seis casais adultos, previamente selecionados, os ovos obtidos foram distribuídos em placas de Petri de 100 mm, preenchidas com 40 mL de solução, sendo 25 ovos em cada placa (estagio 12; GOSNER, 1960). O experimento seguiu as recomendações dadas pela American Society for Testing and Materials – ASTM E 1439 – 98 (2012) adaptadas para a espécie. Os embriões foram acompanhados por 144 h após o início do teste, momento em que os animais do grupo controle atingiram o estagio (24 GOSNER, 1960) em temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12:12. O experimento foi executado utilizando cinco concentrações de 6-aminonicotinamida, mais o grupo controle. As concentrações utilizadas para o teste foram 0,5; 5; 50; 500 e 5.000 mg L⁻¹ de 6-aminonicotinamida. A avaliação da mortalidade foi diária e os embriões mortos foram registrados, retirados dos recipientes e descartados. Ao final do teste, os embriões sobreviventes foram fixados em solução de formaldeído a 3% para posterior análise das malformações. Com os resultados da CL_{50-144h} e da CE_{50-144h} (para malformação) através do método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977), foi calculado o Índice Teratogênico da substância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi determinada a CL_{50-144h} de 1.199,42 mg L⁻¹ e a CE_{50-144h} de 25,64 mg L⁻¹ de 6-aminonicotinamida para embriões de *L. catesbeianus*. O Índice Teratogênico ficou estabelecido em 46,78. Segundo a norma ASTM E 1439-98 (2012), substâncias com IT $\geq 1,5$ são classificadas como claramente teratogênicas.

A 6-aminonicotinamida é recomendada como substância de referência para o teste FETAX por apresentar um Índice Teratogênico (IT - 446) superior a outras substâncias testadas para *Xenopus laevis*, ou seja, apresenta dados de CL₅₀ e CE₅₀ (malformação) bem distintos, com CL₅₀ de aproximadamente 2.230,0 mg L⁻¹ e CE₅₀ de 5,0 mg L⁻¹ (BANTLE *et al.*, 1989; BANTLE *et al.*, 1994; BANTLE *et al.*, 1996). Algumas dificuldades são encontradas para a obtenção dessa substância atualmente no Brasil, além do elevado custo, os longos períodos para importação dificultam sua aquisição por nossos laboratórios.

CONCLUSÃO

A 6-aminonicotinamida é claramente teratogênica para embriões de *Lithobates catesbeianus*. Entretanto, mais estudos, utilizando concentrações intermediárias, são necessários para a obtenção de resultados definitivos com esta substância.

REFERÊNCIAS

- ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS 1980 Standard practice for conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates, and amphibians. Philadelphia. 780p.
- BANTLE, J. A.; BURTON, D. T.; DAWSON, D. A.; DUMONT, J. N.; FINCH, R. A.; FORT, D. J.; LINDER, G.; RAYBURN, J. R.; BUCHWALTER, D.; MAURICE, M. A. 1994 Initial interlaboratory validation study of FETAX: phase I testing. *Journal of Applied Toxicology*, 14(3): 213-223.
- BANTLE, J.A.; BURTON, D.T.; DAWSON, D.A.; DUMONT, J.N.; FINCH, R.A.; FORT, D.J.; LINDER, G.; RAYBURN, J.R.; BUCHWALTER, D.; MAURICE, M.A. 1996 FETAX interlaboratory validation study: Phase III Part 1 testing. *Journal of applied toxicology*, 16: 517-528.
- BANTLE, J. A.; FORT, D. J.; JAMES, B. L. 1989 Identification of developmental toxicants using the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX). In: *Environmental Bioassay Techniques and their Application*. Springer Netherlands. p.577-585.
- GOSNER, K. L. 1960. A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica*, 16(3): 183-190.
- HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. 1977 Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, 11(7): 714-719.