

ANÁLISES HISTOLÓGICAS DO INTESTINO DE ZEBRAFISH EXPOSTOS A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE METFORMINA

Kelly Mariana Montanher Rosolen (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Daiane lark; Fernanda Errero Porto Saporoli (Co-orientador); Luciana Andreia Borin de Carvalho (Orientador). E-mail: labcarvalho@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Morfologia /Citologia, Biologia celular e Histologia

Palavras-chave: *Danio rerio*; Ecotoxicologia; Monitoramento ambiental;

RESUMO

A metformina, amplamente utilizada no tratamento do diabetes tipo 2, é excretada quase inalterada e frequentemente detectada em corpos d'água devido à baixa eficiência dos sistemas convencionais de tratamento de efluentes. Considerada um contaminante emergente, tem sido associada a efeitos adversos em organismos aquáticos, incluindo peixes. Este estudo avaliou os impactos da exposição de *Danio rerio* a diferentes concentrações de metformina (50, 100 e 150 µg/L) por meio de análises histomorfológicas do intestino. Os resultados revelaram um aumento no número de células caliciformes em padrão dose-dependente, indicando intensificação da produção de mucinas como possível resposta adaptativa. Contudo, alterações estruturais observadas em concentrações menores foram menos evidentes na maior concentração testada, sugerindo a atuação de mecanismos compensatórios. Os dados evidenciam o potencial ecotoxicológico da metformina e reforçam a necessidade de revisão de parâmetros regulatórios, além do desenvolvimento de estratégias eficazes de remoção desse fármaco em estações de tratamento de águas residuais, visando a preservação da biodiversidade aquática.

INTRODUÇÃO

A Metformina é atualmente um dos fármacos mais prescritos em escala global, sendo amplamente utilizada como agente antidiabético no tratamento da diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Além de seu efeito terapêutico no controle glicêmico, o medicamento também tem demonstrado eficácia no manejo da síndrome dos ovários policísticos e em outras condições clínicas associadas a disfunções metabólicas e endócrinas (Naseri *et al.*, 2022).

A metformina está entre os produtos farmacêuticos mais prevalentes encontrados no meio ambiente, particularmente em efluentes de estações de tratamento de águas residuais (ETAR) e águas superficiais (Zheng *et al.*, 2024). As

estações de tratamento de águas residuais constituem a principal via de introdução da metformina nos corpos hídricos, uma vez que os processos convencionais apresentam baixa eficiência em sua remoção (Balakrishnan *et al.*, 2022).

Efeitos adversos associados à exposição ambiental à metformina já foram documentados em diferentes organismos aquáticos. Em peixes, incluem-se alterações comportamentais, desregulação endócrina, estresse oxidativo, genotoxicidade e modificações histomorfológicas (Ambrosio-albuquerque *et al.*, 2021). Além disso, produtos de transformação, como a Guanilureia, têm sido identificados em concentrações superiores às do composto original, apresentando toxicidade potencialmente mais elevada e reforçando as preocupações ambientais (Renaud *et al.*, 2023). Nesse contexto, estudos com organismos modelo, como *Danio rerio* (zebrafish), são fundamentais para elucidar os mecanismos de toxicidade da metformina e compreender seus impactos sobre a ictiofauna. Assim, o presente trabalho teve como objetivo realizar análises histomorfológicas no intestino de zebrafish expostos a diferentes concentrações do fármaco.

MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente foi realizado um levantamento bibliográfico em diferentes bases de dados (Google Acadêmico, PubMed, ScienceDirect e SciSpace), priorizando estudos que descrevessem análises histológicas e citológicas do intestino de peixes expostos a poluentes aquáticos. As informações obtidas subsidiaram a elaboração de pranchas histológicas de referência, utilizadas como suporte comparativo na análise das amostras deste estudo. Para as análises histológicas, foram utilizadas amostras da porção distal do intestino de *Danio rerio*, provenientes de experimento prévio aprovado pela CEUA (Protocolo nº 4501110321). O delineamento experimental foi composto por quatro grupos expostos a diferentes concentrações de Metformina (50, 100 e 150 µg/L) e um grupo controle negativo, cada qual constituído por cinco exemplares. As amostras intestinais foram processadas conforme protocolo padrão de histotécnica, incluídas em parafina, seccionadas a 6 µm e coradas com Hematoxilina-Eosina e Ácido Periódico de Schiff. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico (40x), com captura de 24 imagens por peixe. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, seguida de ANOVA one-way e pós-teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise histológica do intestino de *Danio rerio* expostos a diferentes concentrações de Metformina revelou alterações morfofuncionais relevantes quando comparadas ao grupo controle. Foram avaliadas 24 imagens por indivíduo, totalizando 120 imagens por grupo. Entre as alterações observadas, observou-se um aumento significativo no número médio de células caliciformes nas vilosidades intestinais dos grupos expostos, em relação ao controle (Figura 1). O grupo tratado com 150 µg/L apresentou a maior média de células caliciformes, sugerindo um efeito

dose-dependente. Esse aumento sugere uma adaptação fisiológica ao estresse químico, frequentemente descrita como mecanismo de proteção associado à secreção de mucinas, corroborando observações em outros estudos com peixes expostos a contaminantes (Akbulut e Ertuğ, 2019). No entanto, nesse mesmo grupo, outras alterações morfológicas frequentes em doses menores, como a perda de polaridade celular, redução no comprimento das vilosidades e indícios de fusão da vilosidade, foram menos evidentes. Esse achado pode indicar uma resposta adaptativa ou mecanismo compensatório, hipótese que deve ser confirmada em estudos adicionais.

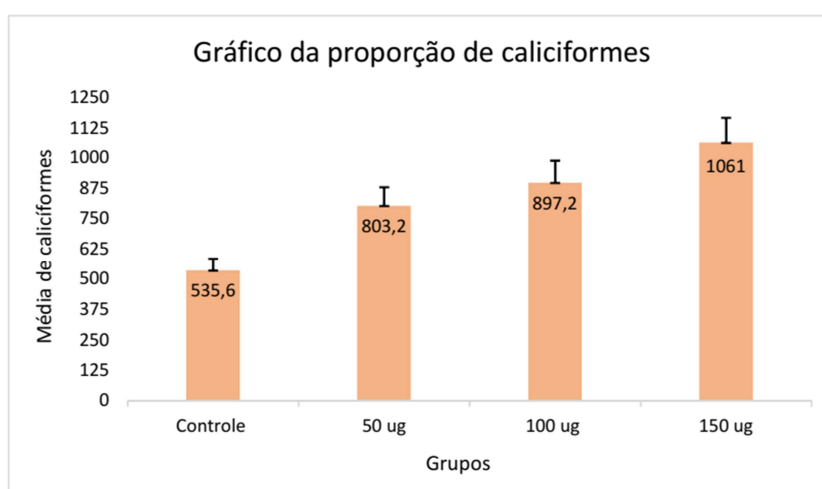


Figura 1- Gráfico da proporção média das células caliciformes entre os grupos.

CONCLUSÕES

A metformina, reconhecida como contaminante emergente em ambientes aquáticos, pode comprometer a saúde e o metabolismo de organismos expostos, mesmo em concentrações muito baixas. No presente estudo, a exposição de *Danio rerio* resultou em alterações histológicas intestinais, com destaque para a hiperplasia de células caliciformes em padrão dose-dependente. Esses achados reforçam a necessidade de aprofundar a investigação sobre os efeitos subletais desse fármaco, além de indicar a urgência de revisar parâmetros regulatórios e desenvolver estratégias mais eficazes de remoção em sistemas de tratamento de efluentes, a fim de mitigar seus impactos e preservar a biodiversidade aquática.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

AKBULUT, C.; ERTUĞ, N. D. Y. Histopathological evaluation of zebrafish (*Danio rerio*) intestinal tissue after imidacloprid exposure. **Acta Aquatica Turcica**, v. 16, n. 3, p. 360-365, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.22392/actaquatr.688863>. Acesso em: 20 jun. 2024.

AMBROSIO-ALBUQUERQUE, E.P.; CUSIOLI, L. F.; BERGAMASCO, R. *et al.* Metformin environmental exposure: A systematic review. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 83, p. 103588, abr. 2021. Disponível em: [doi:10.1016/j.etap.2021.103588](https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103588). Acesso em: 11 ago. 2025.

BALAKRISHNAN, A.; SILLANPÄÄ, M.; JACOB, M. M.; VO, D.-V. N. Metformin as an emerging concern in wastewater: occurrence, analysis and treatment methods. *Environmental Research*, v. 213, 113613, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113613>. Acesso em: 03 ago. 2025.

NASERI, A.; SANAIE, S.; HAMZEHZADEH, S. *et al.* Metformin: new applications for an old drug. **J Basic Clin Physiol Pharmacol**. v. 34, n. 2, p. 151-160, dec. 2022. Disponível em: [doi:10.1515/jbcpp-2022-0252](https://doi.org/10.1515/jbcpp-2022-0252) 2022;. Acesso em: 11 ago. 2025.

RENAUD, J. B.; SABOURIN, L.; LAPEN, D. R. *et al.* Environmental Concentrations of the Type 2 Diabetes Medication Metformin and its Transformation Product Guanyllurea in Surface Water and Sediment in Ontario and Quebec, Canada. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 42, n. 8, p. 1709-1720, ago. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5684>. Acesso em: 11 ago. 2025.

ZHENG, Y.; SHAO, Y.; ZHANG, Y. *et al.* Metformin as an Emerging Pollutant in the Aquatic Environment: Occurrence, Analysis, and Toxicity. **Toxics**, v. 12, n. 7, p. 483, jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxics12070483>. Acesso em: 21 ago. 2025.