

# A presença de fármacos no ambiente

Bruno Nunes<sup>1, 2(\*)</sup>

<sup>1</sup> CIAGEB, FCS-UIP – Centro de Investigação em Alterações Globais, Energia e Bioengenharia, Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, Rua Carlos da Maia, 296, 4200-150, Porto, Portugal.

<sup>2</sup> CESAM-LA - Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, Laboratório Associado, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Campus de Santiago, 3810-193, Aveiro, Portugal.

(\*) bruno@ufp.edu.pt

## Resumo

Estudos recentes demonstram a presença inequívoca de fármacos de utilização humana e veterinária num grande número de ecossistemas aquáticos, tanto marinhos como dulçaquícolas, mas principalmente em efluentes de estações de tratamento de águas residuais. Estas substâncias são importantes do ponto de vista ecotoxicológico, pois possuem um potencial intrínseco de interferir negativamente com alguns aspectos-chaves de organismos aquáticos expostos. Adicionalmente, quando presentes na água de consumo humano, podem colocar questões toxicológicas consideráveis pois não é de destacar totalmente a possibilidade de exercerem efeitos adversos em humanos. A sua acção potencial, tanto em humanos como em organismos selvagens pode ocorrer sobre estruturas biológicas, vias bioquímicas e processos de regulação fisiológicos, com efeitos potenciais imprevisíveis. Este artigo apresenta dados que demonstram a ligação entre a presença de resíduos de fármacos de utilização humana no ambiente e alterações por eles exercidas, indicando que o ciclo de medicamento, tal como o conhecemos, pode requerer uma urgente reflexão, re-análise e medidas preventivas sérias no sentido de eliminar o risco colocado por estes resíduos.

Palavras chave: fármacos, ambiente, efeitos biológicos

## 1. Introdução

### Características gerais dos medicamentos

Os fármacos possuem um conjunto de características intrínsecas que são requeridas para que possam exercer o desejado efeito terapêutico. Adicionalmente, possuem outras vertentes que, não concorrendo directamente para o sucesso do efeito terapêutico, os transformam em substâncias especiais, que quando libertadas no Ambiente, podem ser consideradas como particularmente importantes. Os fármacos e os seus resíduos, após utilização terapêutica, são eliminados pelos seres humanos e animais preferencial-

mente por intermédio da urina e das fezes. Levando em consideração que estas vias de eliminação conduzem inevitavelmente a que sejam enviados para os sistemas de tratamento de resíduos, não serão surpreendente encontrar estes compostos nas águas residuais. Estas são, de forma habitual, depuradas em estações de tratamento de águas residuais, ou inclusivamente lançadas sem tratamento, para o compartimento aquático. Como resultado desta sequência, a presença de resíduos de fármacos em águas é comum. Inclusivamente, os sistemas domésticos (fossas sépticas) ou municipalizados (estações de tratamento de águas residuais) não são eficazes na remoção de resíduos

medicamentosos. Assim, os medicamentos conseguem chegar com facilidade a águas de superfície, ao ambiente marinho, a águas subterrâneas, e inclusivamente a águas de consumo. Os medicamentos possuem actividade biológica, e é exactamente esta característica que os distingue-os da maioria dos compostos sintetizados pelo Homem. Os compostos farmacêuticos são propositadamente desenhados e sintetizados com o propósito de alterarem funções biológicas, no âmbito do diagnóstico médico, da profilaxia e do tratamento de doenças. No sentido do aumento da sua eficácia, possuem elevada biodisponibilidade, e uma elevada potência farmacológica, pelo que pequenas quantidades podem já exercer efeitos assinaláveis. Todas estas considerações assumem particular importância, visto estas características justificarem o exercício de efeitos tóxicos tanto em humanos como em organismos não alvo expostos por via ambiental. Os fármacos possuem alguma lipofilia, pelo que podem ser prontamente absorvidos pelas membranas biológicas (tanto humanas como de organismos selvagens) de molde a exercerem acções farmacológicas. Os resíduos de compostos medicamentosos são resistentes à biotransformação, de modo a maximizar o período de tempo em que exercem efeito terapêutico. Assim, podem ser considerados ambientalmente persistentes, pois são igualmente resistentes aos processos de degradação naturais que ocorrem em outros organismos, e mesmo nos microorganismos mais usuais existentes nas estações de tratamento de águas residuais. Mesmo considerando que alguns compostos de utilização farmacêutica não são propriamente resistentes aos processos metabólicos, a sua contínua libertação para o meio após consumo justifica que estejam sistematicamente presentes nos sistemas de eliminação de resíduos e no compartimento aquático. Adicionalmente, a presença dos fármacos na água funciona como um marcador da presença de

seres humanos numa dada localização geográfica, pois sempre que os humanos se instalam, a presença de resíduos medicamentosos surge. Assim, podemos concluir que os agentes terapêuticos se caracterizam por uso contínuo e geograficamente indiscriminado, e por uma elevada actividade biológica no ambiente (Jones *et al.*, 2002; Miao *et al.* 2002; Daughton e Ternes, 1999; Halling-Sørensen *et al.*, 1998).

### Presença de resíduos de medicamentos no ambiente

Apesar do acréscimo no número de substâncias medicamentosas utilizadas, na sua potência farmacológica, no número de patologias tratáveis e no número de unidades consumidas, o facto é que o tema da contaminação ambiental por fármacos não se assume como um prioridade internacional. Tal facto é de estranhar, visto os fármacos se constituírem como agentes químicos, cuja utilização resulta inevitavelmente na sua libertação para o meio ambiente (Daughton and Ternes, 1999). Os processos de eliminação dos fármacos a partir do organismo resultem dos processos de biotransformação, que culminam habitualmente num aumento significativo da sua hidrossolubilidade, pelo que são libertados em maior extensão pela urina e/ou fezes. Assim, o destino final mais comum para os fármacos e seus metabolitos é o envio para os sistemas de tratamento de resíduos (quando existem); Mesmo após passarem por processos convencionais de tratamento de resíduos, os efluentes contêm quantidades apreciáveis destes compostos. Contrariamente à crença de que as estações de tratamento de águas residuais são eficazes, muitos fármacos passam quase inalterados através destes dispositivos (Petrović *et al.*, 2003; Winkler *et al.*, 2001). É compreensível que o maior compartimento onde os fármacos e seus resíduos se encontram seja o das águas residuais (Miao *et al.*, 2002; Ternes, 1998). No entanto, e independen-

temente da existência destes sistemas de tratamento, estes compostos são lançadas em águas de superfície e marinhas. Tal facto justifica que sejam frequentemente encontrados em águas marinhas, em alto mar, como o caso reportado por Weigel et al. (2002), que demonstrou a presença de ácido clofibrico nas águas do Mar do Norte. Os fármacos sofrem assim um processo de dispersão global, que os leva muito longe do local original de utilização e de libertação. Todas as considerações anteriormente aqui vertida são não só aplicáveis aos fármacos de utilização humana, bem como aos que são utilizados para tratar as doenças veterinárias, drogas de abuso e fármacos de venda livre ou cuja utilização decorre não da prescrição médica, mas de automedicação. Assim, a quantidade global de substâncias com potencial acção farmacológica é elevada, e pode conduzir ao surgimento de efeitos biológicos assinaláveis em espécies expostas.

A questão da presença de fármacos na água é inclusivamente tornada mais difícil de analisar pela presença concomitante de um sem número dos seus metabolitos. Os processos de metabolização normais nos organismos dos pacientes conduzem à formação de novas estruturas químicas, os metabolitos, cujas características favorecem um aumento da sua hidrossolubilidade e, conseqüentemente, da sua eliminação. Assim, é de esperar que a contaminação do ambiente aquático não ocorra somente por intermédio do composto farmacêutico original, mas sim também por um sem número de compostos que derivam da substância inicialmente administrada. Considerando que este(s) processo(s) de metabolização são imensamente variáveis, de acordo com a espécie, podemos conceber que os metabolitos formados pelos humanos podem ser diferentes daqueles que os organismos eventualmente selvagens produzem. Na maioria das situações, os metabolitos são desprovidos de qualquer acção biológica assinalável; no entanto,

alguns possuem significativa actividade farmacológica, que pode ser similar, ou não, à do composto farmacêutico inicial. A formação de compostos com estruturas e acções farmacológicas distintas não se fica unicamente a dever a processos de degradação biológica. Estes compostos podem sofrer o efeito da diluição (que explica a sua baixa concentração no ambiente aquático), adsorção a materiais inertes, depósito em sedimentos, hidrólise, fotoxidação pela luz solar e degradação microbiológica, com conseqüente surgimento de novas estruturas, com efeitos biológicos potencialmente distintos. Para além das diversas naturezas químicas dos compostos, as próprias acções farmacológicas que os compostos exercem podem também diferir de humanos para animais (Olson *et al.*, 2000). Assim, é extremamente difícil, senão mesmo impossível, prever qual o efeito global que decorre da presença simultânea de uma multiplicidade de compostos farmacêuticos, ou aparentados, na água. A interpretação de dados toxicológicos que envolvam a análise combinada de múltiplas substâncias podem ser igualmente dificultada pela interferência nas acções bioquímicas uns dos outros; há inclusivamente estudos prévios (Cleuvers, 2003) que defendem que os fármacos no ambiente podem exercer efeitos sinérgicos quando na presença uns dos outros.

### Efeitos esperados

Em termos genéricos, não existem estudos que demonstrem inequivocamente a ocorrência de efeitos tóxicos causados por fármacos em humanos; no entanto, é cada vez maior a evidência que estes mesmos efeitos podem ocorrer em organismos selvagens. No entanto, e regra geral, os efeitos são genericamente difusos e difíceis de relacionar com a presença de resíduos de fármacos. Pelo facto de os resíduos medi-

camentosos se encontrarem em baixas concentrações nas águas, não é de prever que possam exercer efeitos tóxicos agudos. No entanto, alguns estudos referem que em alguns casos extremos os níveis de fármacos quantificados apontam para a possibilidade da ocorrência de efeitos agudos em organismos expostos (Kümmerer, 2001). Muito provavelmente, os efeitos que se podem esperar da exposição a fármacos serão naturalmente crónicos, a baixos níveis, com o surgimento de alterações subtis. A subtileza destes efeitos pode inclusivamente ser tal que possam ser confundidos com tendências evolutivas (Daughton and Ternes, 1999) que só poderão ser escrutinadas após períodos extremamente longos. Entre os efeitos mais prováveis podemos encontrar as alterações endócrinas, indução/inibição de enzimas ou alteração de vias de sinalização, que não condicionam naturalmente a sobrevivência.

#### Outros compostos de utilização farmacêutica – dermocosméticos

Para além dos compostos com interesse terapêutico, muito outros compostos são igualmente libertados para o meio ambiente na consequência da utilização de produtos farmacêuticos ou dermocosméticos, e dos produtos de higiene e cuidado pessoal. A sua importância ambiental deriva do facto de serem habitualmente libertados em elevadas quantidades, estando a sua toxicidade ambiental hoje bem documentada (ex.: detergentes). Estes compostos são habitualmente rapidamente degradados por múltiplos processos quando no ambiente, mas a sua contínua introdução no meio conduz à redução da capacidade de eliminação. Alguns destes compostos exibem propriedades deterativas, que colocam inclusivamente desafios acrescidos à eficácia dos processos degradativos nas estações de tratamento de águas residuais,

pelo facto de interferirem negativamente com as bactérias responsáveis pelo consumo e degradação dos materiais contidos nas águas residuais a tratar. Assim, são encontrados em elevadas quantidades no efluente que sai das estações de tratamento, o que justifica que sejam sistematicamente encontrados em estudos de monitorização da sua presença no compartimento aquático.

#### O caso particular das drogas de utilização veterinária

O uso de drogas veterinárias é um assunto igualmente importante. Os efeitos que podem advir da presença destas substâncias no ambiente são pronunciados, pois são utilizadas em quantidades elevadas (Sarmah et al., 2006). Substâncias desta classe, ou os seus resíduos, foram já encontrados em solos, água subterrânea, água de superfície, sedimento e em organismos vivos (Boxall et al., 2004). Entre as drogas veterinárias, os antiparasitários (ex.: antihelmínticos) demonstraram já possibilidade de estarem implicados em efeitos biológicos (McKellar, 1995). Sendo utilizados em elevadas quantidades, os antibióticos de utilização veterinária são também um factor importante a considerar, pois são excretados directamente por animais nos pastos, ou devido ao uso de estrume contaminado como prática agrícola; a consequência mais evidente deste padrão de dispersão é a alteração significativa das comunidades bacterianas existentes nos solos impactados (Kemper et al., 2008; Kleiner et al., 2007), bem como a sua lixiviação para o compartimento aquático, da qual resulta um aumento significativo na sua dispersão (Białk-Bielińska et al., 2009).

## 2. Resíduos de fármacos em águas residuais

A principal forma de entrada de resíduos medicamentosos nos ecossistemas aquáticos ocorre pelas águas

residuais após tratamento (Petrović *et al.*, 2003). Não constitui prática corrente (pelo menos em países industrializados) o lançamento de esgotos não tratados em rios ou oceanos em quantidades consideráveis. Embora tenha havido um assinalável esforço técnico-científico no sentido do desenvolvimento de novas metodologias de tratamento de resíduos, com concomitante aumento de eficácia (nomeadamente em termos de eliminação de nutrientes e contaminação microbiana), a verdade é que eliminação da maioria dos compostos medicamentosos em estações de tratamento de águas residuais (ETARs) é ainda incipiente e manifestamente desadequada (Ternes, 1999). Os compostos farmacêuticos são geralmente estáveis, resistentes à biodegradação e interferem com os processos normais de funcionamento microbiológico do qual depende o correcto funcionamento das ETARs.

Na literatura científica actual existe um grande número de estudos que relacionam a presença de resíduos de substâncias farmacêuticas nas águas residuais e a sua consequente presença no ambiente, onde poderão eventualmente causar efeitos adversos em organismos aquáticos. A questão desta presença não se limita aos potenciais efeitos ecológicos que daqui poderão decorrer: na perspectiva da protecção da saúde humana, é necessário escrutinar as suas potencialidades toxicológicas, pois a sua entrada no ciclo da água para consumo humano pode causar efeitos biológicos inesperados (Petrović *et al.*, 2003). Um exemplo adequado de estudos conduzidos neste sentido foi reportado por Miao *et al.* (2002), em que se determinou a presença de alguns resíduos de fármacos em efluentes provenientes de estações de tratamento de águas residuais no Canadá. Este estudo demonstrou que estes efluentes possuíam quantidades significativas de bezafibrato, diclofenac, fenoprofeno, gemfibrozil, ibuprofeno, indometacina e naproxeno.

Uma das mais significativas fontes de contaminação por estes agentes consiste na libertação por intermédio dos efluentes hospitalares. Para além de resíduos de fármacos, os hospitais emitem compostos que se ligam a halogéneos, formando compostos tóxicos, persistentes e passíveis de sofrerem bioacumulação ao longo das cadeias tróficas (Kümmerer *et al.*, 1998). As águas residuais provenientes de instalações hospitalares trazem consigo outro tipo de substâncias, nomeadamente drogas anticancerígenas, como a ciclofosfamida (Steger-Hartmann, 1997). Estas substâncias são toxicologicamente relevantes, pois podem exercer actividades mutagénicas e carcinogénicas, e são normalmente pouco degradadas durante a sua passagem pela estação de tratamento hospitalar. Os efluentes hospitalares possuem carcinogenicidade, que em regra, se fica a dever à presença de fármacos anticancerígenos, juntamente com uma mistura complexa de resíduos de diversas drogas (Gupta *et al.*, 2009).

A questão da degradabilidade das drogas de utilização terapêutica foi estudado por Jones *et al.* (2002), quando avaliou o destino ambiental das 25 drogas de utilização farmacêutica mais prescritas no Reino Unido. Neste estudo, os autores conseguiram obter evidências de que muitas das drogas estudadas não são passíveis de sofrer degradação considerável, nem tão pouco de ficar adsorvidas às lamas resultantes dos processos de tratamento. Assim, é de prever que a concentração de algumas drogas, à saída da ETAR (supostamente após tratamento) pode estar compreendida entre 97 a 98% da sua quantidade inicial, pelo que a esmagadora maioria das moléculas será directamente descarregada para as águas de superfície. O estudo da degradabilidade de drogas foi igualmente levado a efeito por Ingerslev e Halling-Sørensen (2000). Os autores incidiram sobre a classe das sulfonamidas (drogas amplamente utilizadas e não rapidamente biodegradáveis).

Os autores verificaram que, mesmo quando sujeitas a períodos de degradação tão longos como 28 dias em estações de tratamento de águas residuais, estas substâncias não foram totalmente degradadas, apesar de não terem causado perturbações significativas das populações bacterianas existentes na ETAR. Assim, o processo de degradação foi lento e só resultou após um período de aclimação das bactérias, durante o qual os microorganismos sofreram alterações adaptativas de modo a conseguirem suportar a presença e exposição aos referidos compostos.

Um dos principais temas do estudo de resíduos de fármacos no ambiente está relacionado com a libertação de compostos estrogénicos nas águas residuais, em consequência da utilização de contraceptivos orais. Estes compostos são utilizados em larga escala, e a sua presença nas águas residuais tem sido sistematicamente reportada em múltiplos estudos (Streck et al., 2009; Lopez de Alda et al., 2003; Heberer, 2002). A presença deste tipo de substâncias pode acarretar o exercício de disrupção endócrina em meios aquáticos, com alterações ao nível do ambiente hormonal dos organismos expostos. Dados obtidos por Ternes et al. (1999) evidenciaram a libertação de alguns compostos com actividade endócrina, como a estrona,  $17\alpha$ -estradiol,  $17\alpha$ -etinilestradiol e  $16\alpha$ -hidroxiestrone (em concentrações na gama dos ng/l), em ETARs tanto alemãs, como canadianas. A libertação destes compostos decorre da reduzida eficácia das estações de tratamento em lidar com este tipo de químicos. No entanto, as concentrações encontradas não implicam obrigatoriamente que estes compostos estejam já a exercer efeitos tóxicos em animais expostos; apesar deste facto, é necessário monitorizar as suas concentrações, bem como estudar o potencial impacto biológico destes compostos. O cenário de contaminação por compostos farmacêuticos é generalizado; a realidade mostra-nos que a con-

taminação por drogas comuns ocorre em vários países simultaneamente e da mesma forma. O anti-inflamatório diclofenac foi detectado em águas residuais e efluentes, associados a ETARs gregas (Koutsouba et al., 2003) que demonstraram uma significativa ineficácia na sua remoção. Um estudo semelhante foi conduzido por Ferrari et al. (2003), e demonstrou a presença não só de diclofenac, mas também de ácido clofíbrico e carbamazepina em efluentes de ETARs francesas, gregas, italiana e suecas.

### Solo como fonte de contaminação do ambiente aquático

Ficou já patente que a principal via de entrada de resíduos medicamentosos no ambiente consiste na sua libertação para o ambiente aquático, por intermédio das águas residuais. No entanto, o solo pode ser também uma importante fonte de resíduos de origem medicamentosa. A deposição de estrume contaminado, como fertilizante em processos agrícolas, contribui nesse sentido. O estudo conduzido por Hamscher *et al.* (2002) verificou que as tetraciclina (antibióticos) são persistentes em solos fertilizados com estrume líquido. Assim, os resultados apontam para níveis significativos de tetraciclina e clortetraciclina no solo: a concentração média mais elevada foi de 86.2 (camada 0-10 cm de profundidade de solo), 198.7 (camada entre 10-20 cm de profundidade do solo), e 171.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (camada entre 20-30 cm de profundidade de solo) de tetraciclina ; para o caso da clortetraciclina, foram encontrados valores de 4.6-7.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (nas três camadas). Assim, foi determinado que o destino ambiental mais comum para estes compostos é a sua dispersão e deposição nos solos, sob a forma de estrume líquido, proveniente de fezes de animais medicados com estes agentes. Adicionalmente, as tetraciclina assumem-se como compostos

ambientalmente persistentes, pelo que se acumulam, colocando um risco ambiental potencial. Não é de excluir que possam, em última análise, sofrer lixiviação, contaminando o aquífero.

### 3. Efeitos biológicos de resíduos de drogas em organismos-teste

O estudo realizado por Cleuvers (2003) descreveu a toxicidade de 10 drogas de utilização farmacêutica (nomeadamente, ácido clofibrico, carbamazepina, ibuprofeno, diclofenac, naproxeno, captopril, metformina, propranolol e metoprolol) utilizando como organismos-teste indivíduos do cladóceros de água doce *Daphnia magna*. Os resultados obtidos demonstraram alguma heterogeneidade, sendo a toxicidade moderada. O  $\beta$ -bloqueador propranolol assumiu-se como o composto mais tóxico, pois causou morte de 50% (LC<sub>50</sub>) dos animais expostos a uma concentração de 7,5 mg/l. Pelo contrário, a droga anti-inflamatória naproxeno revelou ser quase desprovida de toxicidade para este organismo (LC<sub>50</sub> de 174 mg/l). Mais importante do que a toxicidade isolada de cada um dos compostos, ficou evidente que os efeitos de associação de duas substâncias poderiam provocar um grande aumento da resposta tóxica. Por exemplo, a associação de ácido clofibrico (metabolito de alguns fibratos, usados na regulação do colesterol sanguíneo) e o anti-epiléptico carbamazepina, revelou efeitos tóxicos pronunciados. Esta é uma questão de particular relevância, pois os resíduos de fármacos no ambiente estão frequentemente em associação, e a toxicidade destes compostos pode ser superior pelo simples facto de co-existirem na mesma matriz ambiental.

A revisão elaborada por Brooks *et al.* (2003) abarca a temática da exposição por via ambiental de algumas espécies de crustáceos (*Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna*), e de peixe (*Pimephales promelas*) ao inibidor

selectivo de recaptação de serotonina fluoxetina. As concentrações de fluoxetina observadas que provocaram 50% de mortalidade nos organismos expostos foram de 234, 820 e 705 mg/l, para *C. dubia*, *D. magna* e *P. promelas*, respectivamente. A fluoxetina, neste mesmo trabalho, foi indentificada como o agente causal do aumento da mortalidade de organismos da espécie *Chironomus tentans* quando se encontram em sedimentos contaminados. Assim, pode concluir-se que a exposição a resíduos deste fármaco podem aumentar significativamente a toxicidade de substâncias existentes no ambiente. O impacto de algumas drogas farmacêuticas como a carbamazepina, o ácido clofibrico e o diclofenac na sobrevivência dos cladóceros *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* foi igualmente avaliado por um estudo conduzido por Ferrari *et al.* (2003). Os autores puderam observar que, após exposição aguda, os cladóceros eram relativamente insensíveis ao ácido clofibrico, pois só sofriam imobilização após exposição a concentrações na ordem dos 200 mg/l. Este estudo permitiu definir um ranking de toxicidade: diclofenac > carbamazepina > ácido clofibrico. A exposição crónica causou modificações neste ranking, pois a carbamazepina foi a droga mais tóxica, seguida pelo ácido clofibrico e pelo diclofenac. A hidra de água doce *Hydra vulgaris*, após exposição aguda (7 dias) a concentrações ambientalmente relevantes de ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, paracetamol, amoxicilina, bendroflumetiazida, furosemida, atenolol, diazepam, digoxina e amlodipina não sofreu efeitos letais (Pascoe *et al.* (2003). Estes resultados permitiram aos autores concluir que a relevância ecológica do efeito ambiental causado por estes fármacos, nas concentrações testadas, é pouca, pelo que não é de prever que possam ocorrer efeitos agudos na Natureza.

## Efeitos endócrinos

Um dos efeitos mais preocupantes passíveis de ser exercidos por compostos de utilização farmacêutica prende-se com a interferência com o ambiente endócrino de organismos expostos, embora não seja essa a sua função farmacológica. Inclusivamente, compostos nada aparentados com hormonas são potenciais disruptores endócrinos, tal Brooks *et al.* (2003) demonstraram, ao publicar uma extensa revisão sobre os efeitos que decorrem da exposição à droga antidepressora fluoxetina em ambientes aquáticos. Assim, foi possível constatar que a fluoxetina está envolvida no aumento da fecundidade do anfípode *Hyalella azteca* e do crustáceo *Ceriodaphnia dubia*. Este tipo de resposta não foi reportado aqui pela primeira vez, pois respostas similares tinham sido já observadas em organismos diferentes, como *Daphnia magna* e algumas espécies de mexilhões. A exposição de peixes a fluoxetina permitiu obter dados diferentes. A exposição de fêmeas da espécie de peixe *Oryzias latipes*, durante 4 semanas a diversas concentrações de fluoxetina, causou um ligeiro aumento dos níveis circulantes de estradiol, embora sem consequências evidentes sobre a sua performance reprodutiva. No entanto, os embriões que resultaram do acasalamento de animais expostos exibiram várias anomalias, como edema, espinha dorsal curvada, desenvolvimento incompleto (ausência de barbatanas peitorais, olhos mais pequenos), e incapacidade de resposta.

## Inibição de crescimento de culturas celulares

A quantificação dos potenciais efeitos tóxicos causados por exposição ambiental a fármacos pode ser realizada recorrendo a diversos modelos, tais como inibição de crescimento de plantas ou algas aquáticas. Cleuvers (2003) descreveu a toxicidade de dez

compostos farmacêuticos para organismos aquáticos, entre os quais se encontra a clorófito *Desmodesmus subspicatus* e a macrófito *Lemna minor*. Outro estudo que recorreu a algas unicelulares de água doce, foi o descrito por Brooks *et al.* (2003), em que se recorreu à espécie *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismo-teste. A mesma espécie foi igualmente utilizada por Ferrari *et al.* (2003) para a determinação dos efeitos das drogas ácido clofibríco, carbamazepina e diclofenac, sobre o crescimento de culturas ao longo de 96 horas. Este ensaio permitiu verificar que esta espécie de alga de água doce é particularmente sensível ao anti-inflamatório diclofenac.

## Efeitos não específicos

Os efeitos dos fármacos e compostos de higiene pessoal são por vezes difíceis de analisar, caracterizar e quantificar; no entanto, são obviamente prejudiciais para com os processos fisiológicos de organismos expostos. Compostos amplamente utilizados, como os detergentes aniónicos, colocam questões ecologicamente relevantes. Apesar de não serem consideradas drogas farmacêuticas, entram na composição de muitas formulações para uso humano, como champôs, banhos de espuma, pastas de dentes e adjuvantes em preparações dermocosméticas e farmacêuticas (Sirisattha *et al.*, 2004), e são rejeitadas em quantidades consideráveis para o ambiente aquático. O estudo de revisão realizado por Csheráti *et al.* (2002) recolheu evidências que sustentam o envolvimento dos detergentes aniónicos em alterações biológicas, como o comprometimento de vias bioquímicas e modificações estruturais, em diversas espécies não alvo expostas por via ambiental. Assim, ficou evidente que os detergentes exercem múltiplos efeitos no ambiente, nomeadamente ligação a macromoléculas bioactivas, proteínas, péptidos e DNA. Os detergentes podem

também sofrer inserção em fragmentos celulares, como membranas fosfolipídicas, sendo assim responsáveis por disrupções no funcionamento celular.

Todos estes efeitos podem resultar na activação de vias de sinalização que conduzem á morte celular, e conseqüente regeneração. Assim, a capacidade de regeneração tecidual constitui uma resposta genérica que contribui para a capacidade de resistir á agressão. Interpretada desta forma, pode funcionar como um parâmetro (eco)toxicológico significativo. Neste sentido, a regeneração dos pólipos de *Hydra vulgaris* foi utilizada como um parâmetro de avaliação de toxicidade após exposição daquele organismo a drogas farmacêuticas (Pascoe *et al.*, 2003). Indivíduos expostos por 72 horas a diazepam, digoxina e amlodipina foram incapazes de regenerar os seus pólipos, mesmo quando sujeitos a concentrações tão baixas quanto 10 µg/l.

O metabolismo bacteriano é também um parâmetro útil para avaliar os efeitos da contaminação por drogas farmacêuticas. O já referido estudo conduzido por Ferrari *et al.* (2003) utilizou o teste padronizado Microtox (que contém a espécie bacteriana *Vibrio fischeri*) para determinar os efeitos sobre o metabolismo microbiano que decorrem da exposição a ácido clofibrato, carbamazepina e diclofenac. Este procedimento permitiu observar que esta espécie de bactéria é extremamente sensível ao diclofenac. Tal resultado pode significar que o impacto nas comunidades bacterianas naturais por agentes terapêuticos não pode ser negligenciado.

#### Alterações comportamentais

A libertação de compostos neuroactivos para o meio é capaz de, potencialmente, causar alterações comportamentais em organismos expostos. De acordo com os resultados descritos por Uhler *et al.* (2000), drogas da classe dos inibidores selectivos da recaptação da

serotonina, são capazes de alterar significativamente o comportamento de gastrópodes. Embriões do gastrópode de água doce *Physa elliptica* expostos a estas drogas exibiam fortes alterações comportamentais, nomeadamente no movimento rotacional dependente de cílios. Entre os compostos testados, destacam-se os antidepressivos paroxetina e fluoxetina, pois foram capazes de originar uma resposta dependente da dose, em que concentrações entre  $10^{-6}$  e  $10^{-5}$  M causaram aumento da rotação, e uma concentração de  $10^{-4}$  M diminuiu a rotação abaixo dos níveis basais. Dados publicados por Pascoe *et al.* (2003) estabeleceram que a exposição crónica do cnidário *Hydra vulgaris* a concentrações crescentes de ibuprofeno ou de ácido acetilsalicílico causa diminuições significativas na quantidade de presas ingeridas.

#### 4. Conclusões

Em função dos dados aqui apresentados, é possível concluir que os resíduos de fármacos não poderão de modo algum ser considerados *a priori* inócuos. Inclusive, e considerando o contínuo surgimento de novos dados de identificação, quantificação e monitorização destes resíduos no ambiente, torna-se urgente reflectir sobre qual a abordagem prioritária a adoptar. Para além dos compostos iniciais, os produtos de degradação e metabolitos das substâncias medicamentosas são igualmente importantes pois podem possuir actividade biológica acentuada. Considerando que as águas residuais são fontes primordiais de drogas ao nível ambiental, torna-se necessária uma implementação urgente de melhorias significativas que contribuam para a eficácia em termos de eliminação ou mitigação destes agentes específicos, de modo a reduzir as elevadas quantidades de agentes terapêuticos que são lançadas nas águas de superfície sem tratamento.

O ciclo do medicamento, na sua versão mais consensual e disseminada, envolve vários passos, que não incluem uma mandatária avaliação exaustiva da toxicidade ambiental inerente à droga, após libertação, nem contempla a definição do perfil de metabolitos formados durante a biotransformação nos organismos selvagens com que contacta no meio. Assim, e se for considerado que as drogas de origem farmacêutica possuem um potencial efeito ambiental, torna-se necessário considerar a alteração deste paradigma. É crucial para uma análise ambiental, no âmbito da contaminação por fármacos, a compreensão dos mecanismos toxicológicos não só do composto inicial, mas também dos seus metabolitos, e para várias espécies. De acordo com os dados toxicológicos aqui enunciados, é possível definir alguns testes ecotoxicológicos que avaliem o impacto consequente à presença de drogas no ambiente. Assim, é necessário um maior envolvimento da comunidade científica, de raiz farmacêutica, no sentido de: i) definir com exactidão as quantidades de drogas que entram no ambiente após libertação pelos humanos; ii) o perfil de metabolitos ou produtos de degradação encontrados nas águas residuais; iii) a quantidade de droga degradada de facto pelas ETARs; iv) a carga total de drogas que entram no ambiente, após eliminação, contabilizando os metabolitos e produtos de degradação; v) os efeitos biológicos em espécies não-alvo, incluindo organismos de diferentes níveis tróficos; vi) o potencial de bioacumulação e/ou biomagnificação ao longo das cadeias tróficas; vii) a possibilidade de interferência com vias bioquímicas humanas, através dos alimentos ou da água de bebida; viii) a definição de vias abióticas de transformação destas substâncias e que podem conduzir à sua significativa e definitiva eliminação do meio ambiente.

## Bibliografia

- Białk-Bielińska A, Kumirska J, Palavinskas R, Stepnowski P (2009). Optimization of multiple reaction monitoring mode for the trace analysis of veterinary sulfonamides by LC-MS/MS. *Talanta* 80 (2): 947-953
- Boxall AB, Fogg LA, Blackwell PA, Kay P, Pemberton EJ, Croxford A (2004). Veterinary medicines in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 180: 1-91.
- Brooks BW, Foran CM, Richards SM, Weston J, Turner PK, Stanley JK, Solomon KR, Slattery M, La Point TW (2003). Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. *Toxicology Letters* 142: 169-183
- Cleuvers M (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters* 142: 185-194.
- Cserhádi T, Forgács E, Oros G (2002). Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment International* 28 : 337-348.
- Daughton CG, Ternes TA (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* 107: 907-938.
- Ferrari B, Paxéus N, Lo Giudice R, Pollio A, Garric J (2003). Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55: 359 - 370.
- Gupta P, Mathur N, Bhatnagar P, Nagar P, Srivastava S (2009). Genotoxicity evaluation of hospital wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72(7): 1925-1932.
- Halling-Sorensen B, Nors Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhof HC, Jorgensen SE (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review. *Chemosphere* 36(2): 357-393.
- Hamscher G, Sczesny S, Höper H, Nau H (2002). Determination of Persistent Tetracycline Residues in Soil Ferti-

- lized with Liquid Manure by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 74: 1509 - 1518.
- Heberer T (2002). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131(1-2): 5-17.
- Ingerslev F, Halling-Sørensen B (2000). Biodegradability Properties of Sulfonamides in Activated Sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19 (10): 2467-2473.
- Jones OAH, Voulvoulis N, Lester JN (2002). Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Research* 36: 5013-5022
- Kemper N (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators* 8: 1 - 13.
- Kleiner DK, Katz SE, Ward PM (2007). Development of in vitro antimicrobial resistance in bacteria exposed to residue level exposures of antimicrobial drugs, pesticides and veterinary drugs. *Chemotherapy* 53(2):132-136.
- Koutsouba V, Heberer T, Fuhrmann B, Schmidt-Baumler K, Tsipi D, Hiskia A (2003). Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 51: 69 - 75.
- Kümmerer K (2001). Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere* 45: 957-969.
- Kümmerer K, Erbe T, Gattiser S, Brinker L (1998). AOX-Emissions from Hospitals into Municipal Waste Water. *Chemosphere* 36 (11): 2437-245
- McKellar QA (1997). Ecotoxicology and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology* 72: 413 - 435.
- Lopez de Alda MJ, Díaz-Cruz S, Petrovic M, Barceló D (2003). Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment. *Journal of Chromatography A* 1000(1-2): 503-526.
- Miao X-S, Koenig BG, Metcalfe CD (2002). Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 952: 139-147
- Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G, Lilly P, Sanders J, Sipes G, Bracken W, Dorato M, Van Deun K, Smith P, Berger B, Heller A (2000). Concordance of the Toxicity of Pharmaceuticals in Humans and in Animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32: 56 - 67.
- Pascoe D, Karntanur W, Müller CT (2003). Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere* 51: 521 - 528.
- Petrović M, Gonzalez S, Barceló D (2003). Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends in Analytical Chemistry* 22 (10): 685-696.
- Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65(5): 725-759.
- Sirisattha S, Momose Y, Kitagawa E, Iwahashi H (2004). Toxicity of anionic detergents determined by *Saccharomyces cerevisiae* microarray analysis. *Water Research* 38: 61-70.
- Streck G (2009). Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment. *TiAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(6): 635-652.
- Steger-Hartmann T, Kümmerer K, Hartmann A (1997). Biological Degradation of Cyclophosphamide and Its Occurrence in Sewage Water. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 36: 174-179.
- Ternes TA, Stumpf M, Mueller J, Haberer K, Wilken R-D, Servos M (1999). Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *The Science of the Total Environment* 225: 81 - 90.
- Ternes T (1999). Drugs

and hormones as pollutants of the aquatic environment: determination and ecotoxicological impacts. *The Science of the Total Environment* 225 1 – 2.

Ternes TA (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment, plants and rivers. *Water Research* 32 (11): 3245 - 3260.

Uhler GC, Huminski PT, Les FT, Fong PP (2000). Cilia-Driven Rotational Behavior in Gastropod (*Physa elliptica*) Embryos Induced by Serotonin and Putative Seroto-

nin Reuptake Inhibitors (SSRIs). *Journal of Experimental Zoology* 286: 414 – 421.

Weigel S, Kuhlmann J, Huhnerfuss H (2002). Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. *The Science of the Total Environment* 295: 131 – 141.

Winkler M, Lawrence JR, Neu TR (2001). Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in tow model river biofilm. *Water Research* 35(13): 3197– 3205.