

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

BIOLOGICAL EFFECTS OF COMMON PHARMACEUTICAL DRUGS (paracetamol and acetylsalicylic acid): SHORT TERM EXPOSURE ON MYTILUS spp

Esposizione a paracetamolo e acido sulfosalicilico: effetti biologici nel bivalve Mytilus spp.

Tesi di Laurea di:
Leonardo D'Antonio

Docente referente
Prof.ssa Maura Benedetti

Sessione estiva
A.A 2021/2022



Riassunto esteso

La presenza dei farmaci negli ambienti può comportare rischi significativi agli organismi; la situazione è più problematica quando si parla di ambienti marini costieri, situati nelle vicinanze di grandi centri abitati, a causa dell'elevato numero di inquinanti presenti sotto costa e dell'esposizione continua a numerose molecole che possono compromettere lo stato di salute degli organismi marini.

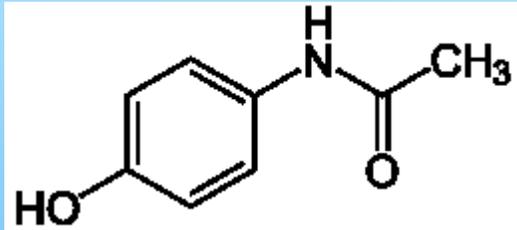
In questo studio è stata valutata la tossicità di alcuni farmaci da banco (in particolare paracetamolo e acido acetilsalicilico), studiando la suscettibilità della specie *Mytilus* spp allo stress ossidativo dopo essere stata esposta per 96 h a concentrazioni crescenti, ma ecologicamente rilevanti, dei due farmaci citati.

Lo stato ossidativo negli organismi esposti è stato analizzato misurando i biomarker dello stress ossidativo, ovvero l'attività dell'enzima catalasi (CAT), delle glutatione-S-transferasi (GST) e i livelli di perossidazione lipidica (LPO). Inoltre sono state anche valutate il tasso di filtrazione e lo stato delle riserve nutrizionali degli organismi esposti, misurando il consumo del cibo ingerito e i livelli di riserva del glicogeno nelle branchie e nella ghiandola digestiva.

Non sono state osservate alterazioni significative nei parametri dello stress ossidativo e dell'assunzione di cibo. Al contrario, le riserve di glicogeno sono state sostanzialmente modificate dopo l'esposizione, con risposte opposte dai farmaci.

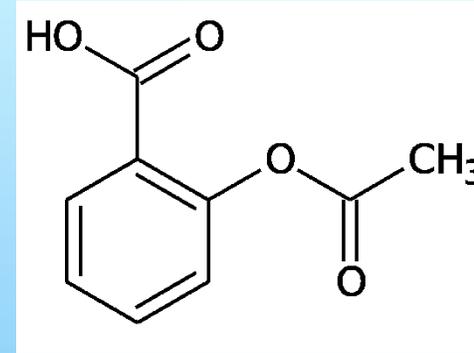
Sono quindi necessarie ulteriori valutazioni per trarre delle conclusioni sull'ecotossicità dei farmaci; in particolare dovrebbe essere presa in considerazione la stagionalità che potrebbe influenzare le risposte biologiche analizzate.

Introduzione



Paracetamolo

Il paracetamolo è un derivato p-aminofenolo con attività analgesiche e antipiretiche.



Acido acetilsalicilico

L'acido acetilsalicilico è un antinfiammatorio della famiglia salicilati.

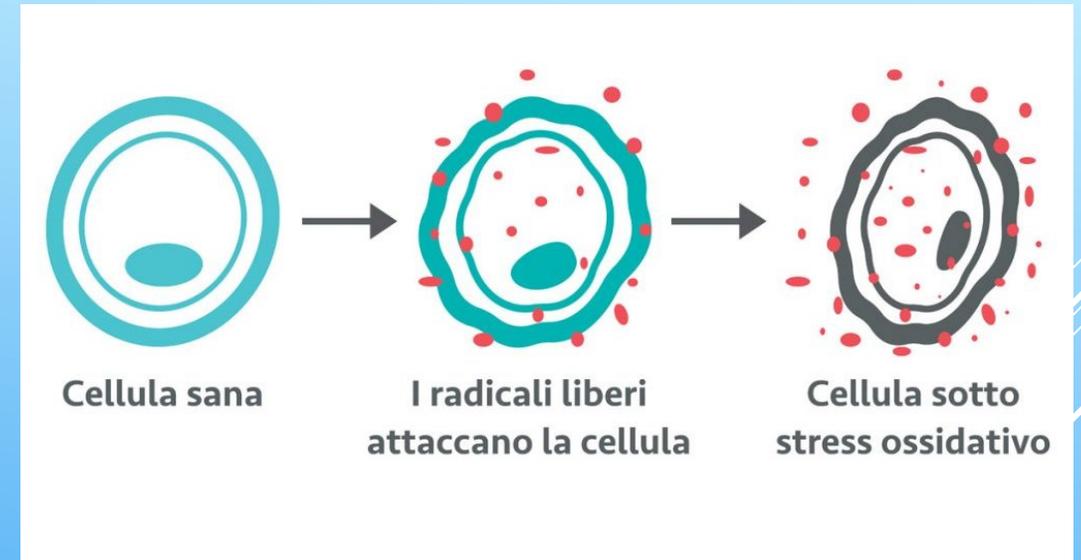
Sono alcuni dei farmaci più importanti e diffusi al mondo. Dato l'elevato uso, sono tra i più presenti nell'ambiente marino. Entrambi sono considerati sicuri per l'uso umano quando somministrati in dosaggi terapeuticamente comuni.

Stress ossidativo

Il metabolismo della maggior parte degli xenobiotici può produrre Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS) che possono danneggiare macromolecole biologiche, cellule e tessuti. Per attenuare gli effetti deleteri dei ROS, gli organismi viventi sotto condizioni pro-ossidative aumentano l'espressione genica e l'attività di enzimi antiossidanti:

- superossido dismutasi (SOD)
- catalasi (CAT)
- glutazione reduttasi (GRed)
- glutazione perossidasi (GPx).

La perossidazione lipidica (LPO) è un danno di tipo ossidativo alle cellule ed è causata dall'attacco dei radicali liberi agli acidi grassi polinsaturi (PUFA) delle membrane biologiche.



Specie investigata

I mitili (*Mytilus* spp) presentano le seguenti caratteristiche:

- sono molluschi bivalvi prevalentemente marini;
- sono dotati di branchie tramite le quali si alimentano e respirano;
- sono filtratori e tendono ad accumulare le sostanze presenti nell'ambiente.



Scopo della tesi

L'obiettivo di questo lavoro è valutare la tossicità a breve termine di paracetamolo e all'acido acetilsalicilico nei mitili *Mytilus* spp, attraverso lo studio di biomarker cellulari come la CAT, le GST e la perossidazione lipidica. Questo studio inoltre permette di valutare la tossicità dei due farmaci anche andando a valutare variazioni nel tasso di alimentazione e nell'accumulo di glicogeno.

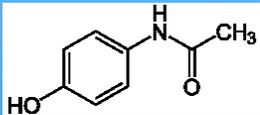
Materiali e metodi

Durante il mese di maggio sono stati prelevati dei mitili, trasportati in laboratorio per l'acclimatazione per 3 settimane e nutriti con *Chlorella vulgaris*.

Disegno sperimentale

Sono state preparate soluzioni stock 10mg/L dei due diversi farmaci.

Per l'esposizione a breve termine (96h) sono state usate 4 diverse concentrazioni e un controllo:

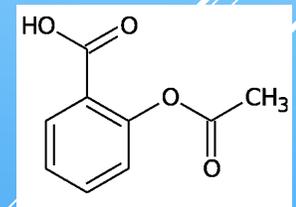


Paracetamolo

- 0 controllo
- 0.5 µg/L
- 5 µg/L
- 50 µg/L
- 500 µg/L

Acido acetilsalicilico

- 0 controllo
- 0.1 µg/L
- 1 µg/L
- 10 µg/L
- 100 µg/L



Parametri analizzati

Feeding assay: un campione di mitili viene nutrito per verificare la variazione del tasso di nutrizione post-esposizione ai farmaci.

Biomarkers assay:

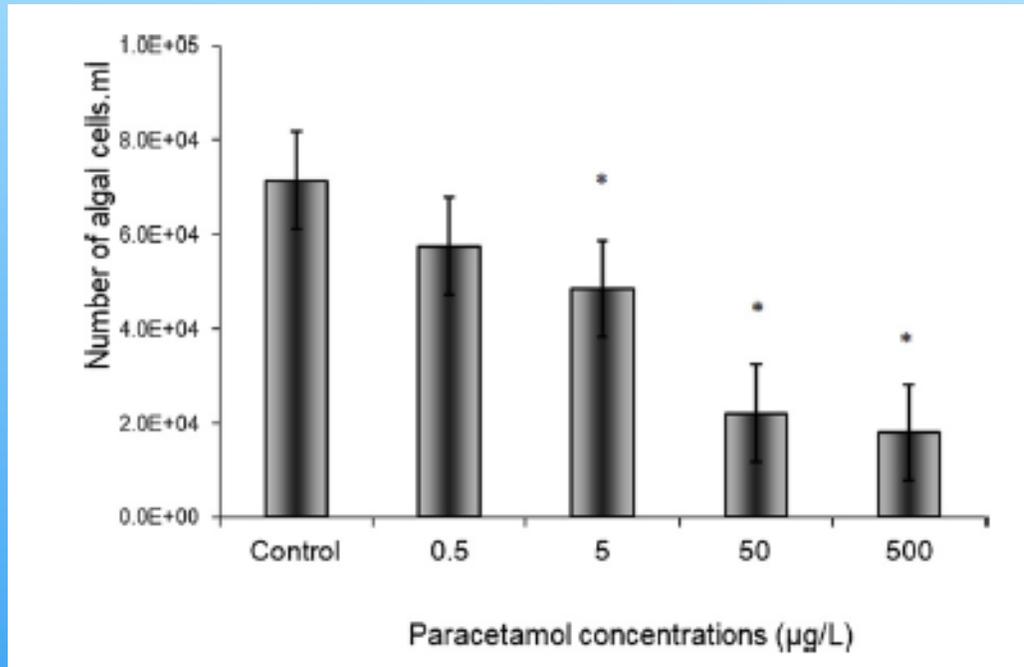
- attività Gst;
- attività catalasi;
- perossidazione lipidica (*Tbars*);
- determinazione del glicogeno.

Analisi statistica:

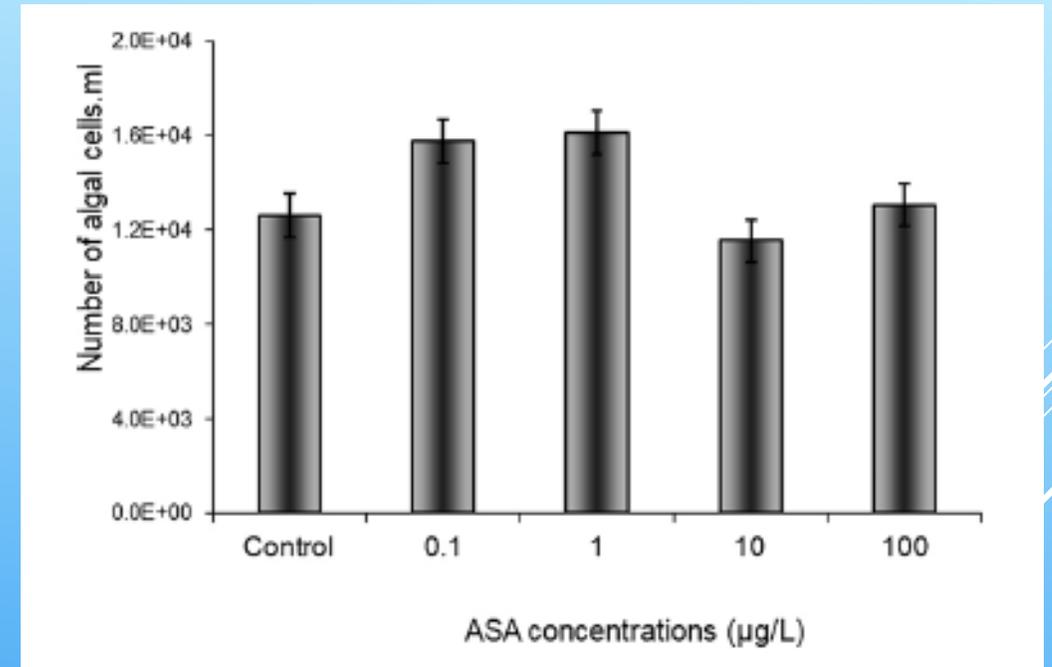
ANOVA, seguito dal test multicomparativo di Dunnet.

Risultati

Paracetamolo



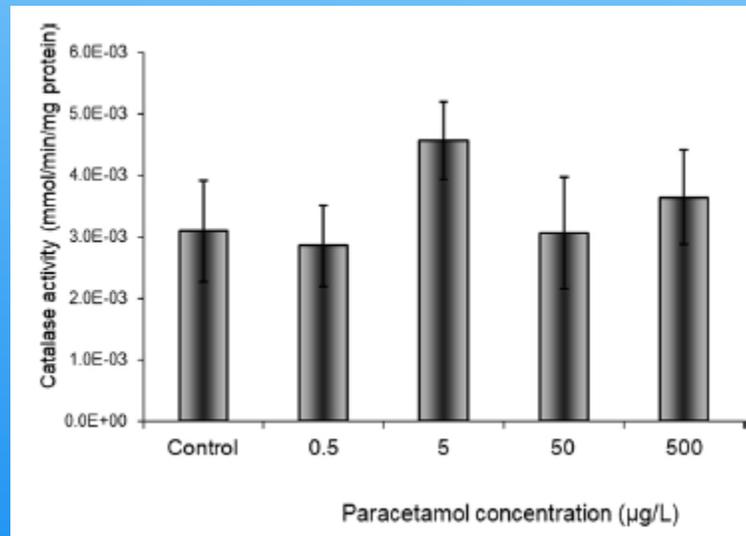
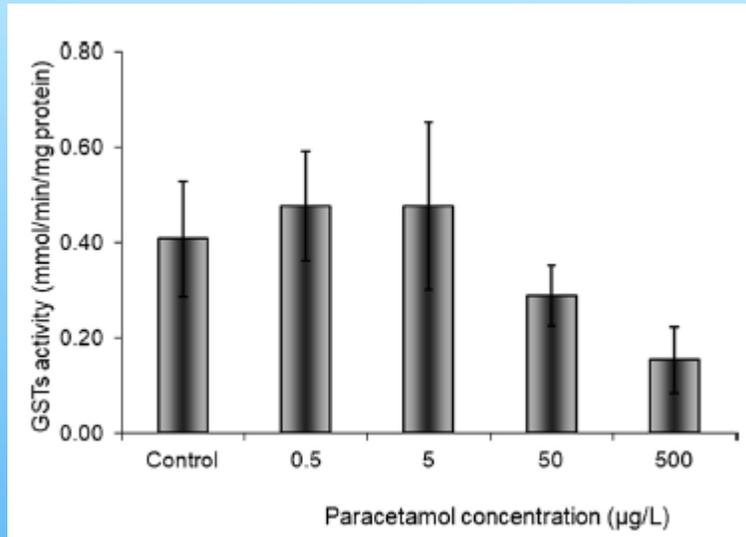
Acido acetilsalicilico



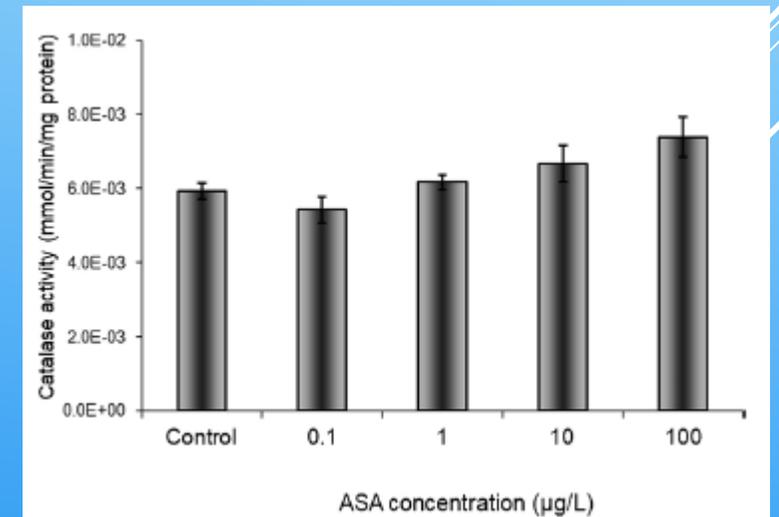
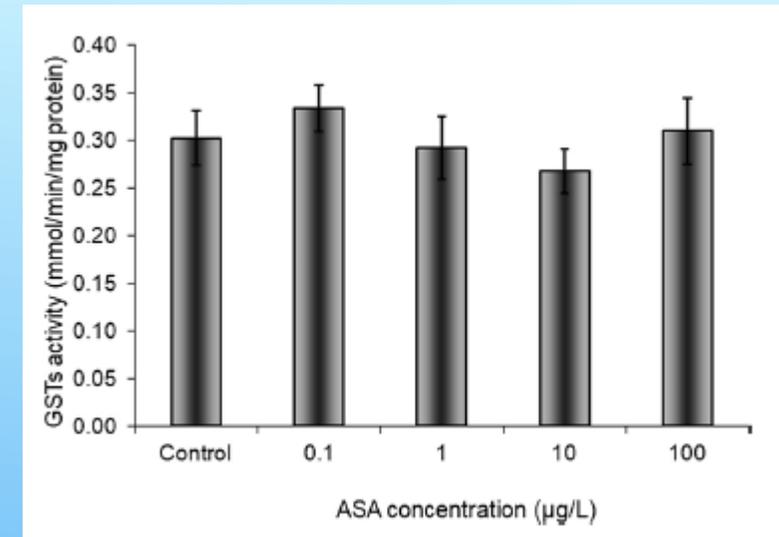
Feeding assay

Risultati

Paracetamolo



Acido acetilsalicilico

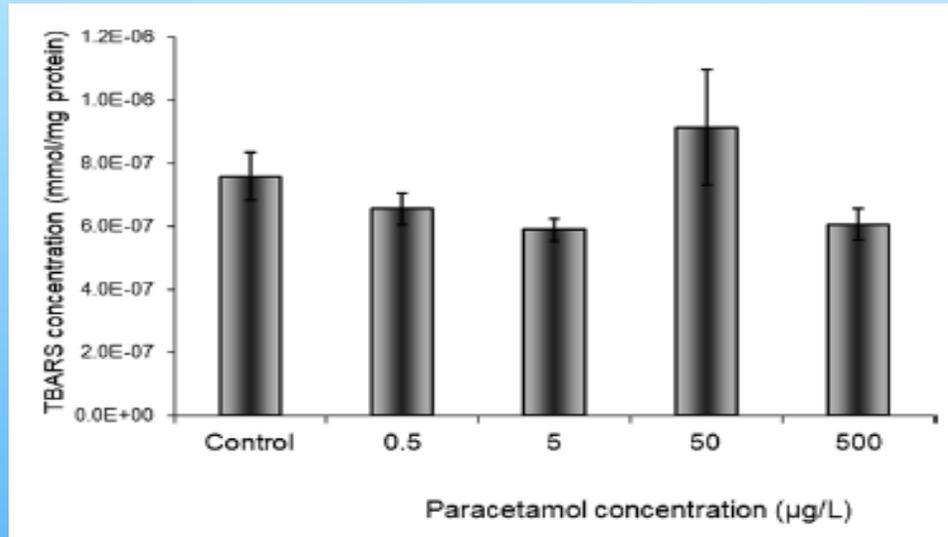


Attività Gst

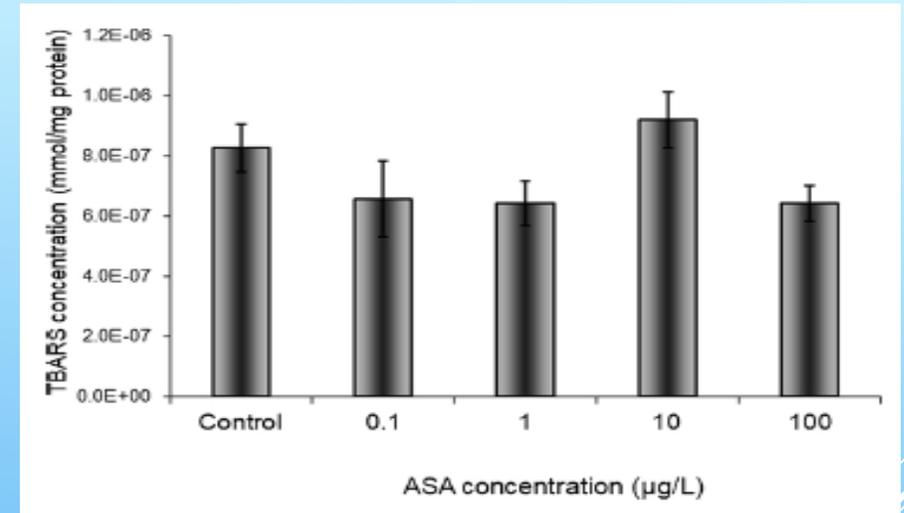
Attività catalasi

Risultati

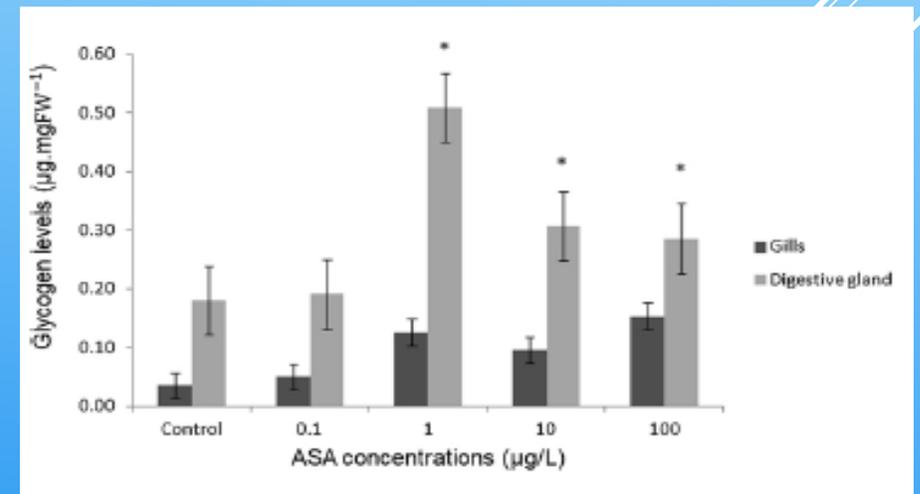
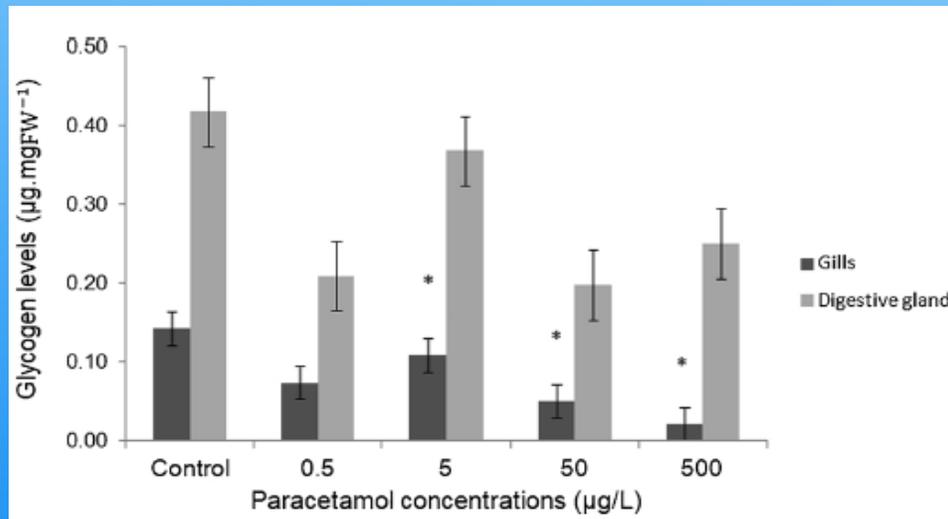
Paracetamolo



Acido acetilsalicilico



Tbars



Determinazione glicogeno

Conclusioni

L'esposizione dei mitili al paracetamolo e all'acido acetilsalicilico non sono hanno causato alterazioni significative nei parametri biologici valutati.

Questa conclusione è probabilmente correlata al breve periodo di esposizione ma anche ai livelli di concentrazione utilizzati che non riflettono le effettive condizioni ambientali.

Inoltre, è necessaria la valutazione di una batteria più ampia di risposte biologiche per valutare potenziali effetti tossici di questi farmaci.

Bibliografia

- Francisca Piedade, Sofia Bio, Bruno Nunes. 2020 Effects of common pharmaceutical drugs (paracetamol and acetylsalicylic acid) short term exposure on biomarkers of the mussel *Mytilus* spp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 73, 103276. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103276>
- Figura 1: https://en.wikipedia.org/wiki/Mytilidae#/media/File:Miesmuschel_n_Mytilus_1.jpg
- Figura 2: <https://it.wikipedia.org/wiki/Paracetamolo#/media/File:N-Acetyl-p-aminophenol.svg>
- Figura 3: https://it.wikipedia.org/wiki/Acido_acetilsalicilico#/media/File:Aspirina_struttura.svg
- Figura 4: <https://www.melarossa.it/salute/radicali-liberi/>
- Figura 5: <https://www.flickr.com/photos/64892508@N06/10228639655>

Grazie per l'attenzione!

