JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

DESAFIOS DA TOXICOLOGIA

Livro de Resumos
Libro de Resúmenes
Abstracts Book

4 E 5 JUNHO

Núcleo de Estudantes de Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

III JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

DESAFIOS DA TOXICOLOGIA

III JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGÍA

DESAFÍOS DE LA TOXICOLOGÍA

UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR - PORTUGAL 2021

4-5 JUNHO DE 2021

4-5 JUNIO DE 2021

http://ubipharma.pt/jornadas-ibericas-da-toxicologia/

http://ubipharma.pt/jornadas-ibericas-de-toxicologia/

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior

UBIPHARMA

Título: III Jornadas Ibéricas de Toxicologia
[Autor: E. Gallardo]
[Co-autor(es): UBIPharma - Núcleo de Estudantes de Ciências Farmacêuticas da UBI]
[Instituição: Universidade da Beira Interior]
[Suporte: Eletrónico]
[Formato: n.d.]
[ISBN: 978-989-654-772-1]
Agência Nacional de ISBN, Lisboa, Portugal

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

INSTITUTO COORDENADOR DA INVESTIGAÇÃO

LABOR SPIRIT Lda.
Consumíveis e Material de Laboratório

UBIPHARMA

CICS-UBI
Centro de Investigação em Ciências da Saúde
Health Sciences Research Centre

FEDERACION ESPAÑOLA ESTUDIANTES FARMACIA

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS 1835

UNIVERSIDADE BEIRA INTERIOR

Mc Graw Hill

SERVIÇO TAXI 24 HORAS

TAXI FILIPE
969 616 973

molecules
an Open Access Journal by MDPI

IMPACT FACTOR 3.267

Covered in: PubMed

Advances on Bioanalysis: Recent Approaches in the Determination of Biomarkers, Drugs of Abuse and Medicines

Guest Editors
Dr. Mário Barroso, Prof. Dr. Eugenia Gallardo, Prof. Dr. Luis Passarinha

Deadline
15 November 2021

Special Issue
Invitation to submit

mdpi.com/si/56793

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA



As III Jornadas Ibéricas de Toxicologia encontram-se creditadas pela Ordem dos Farmacêuticos, Portugal

Las III Jornadas de Toxicología están acreditadas por la Ordem dos Farmacêuticos, Portugal

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Índice

Mensagem da Comissão Organizadora e Científica /
Mensaje del Comité Organizador y Científico.....7
Comissão Organizadora / Comité Organizado.....14
Comissão Científica / Comité Científico.....16
Programa.....18
Painéis / Paneles 20
Comunicações Livres - Comunicações Orais /
Comunicaciones Libres - Comunicaciones Orales.....64
Pósters / Pósteres.....110

Mensagem da Comissão Organizadora e Científica

A celebração das III Jornadas Ibéricas de Toxicologia é o culminar do esforço de todos os membros da Comissão Organizadora e Científica, com a esperança de que as expectativas nelas depositadas sejam satisfeitas. Foi também para nós uma honra preparar novamente estas Jornadas, para mais tendo em consideração os desafios iniciais desde a primeira edição pelo facto de ser o primeiro evento dedicado exclusivamente à Toxicologia realizado em Portugal e de ser celebrado numa universidade jovem, como a Universidade da Beira Interior. Foi sem dúvida um ano desafiante em todos os aspectos, e tal como diz o tema das Jornadas, todos aprendemos novas formas de estar, de apreciar as pequenas coisas, viver ou sobreviver e de nos comunicarmos.

Foi nossa intenção, e acreditamos que com sucesso, contar com a presença ativa de jovens investigadores toxicologistas, ou de aqueles prestes a completar a sua formação académica e desejem quiçá aventurar-se no campo da Toxicologia. Este ano, sob o tema “Desafios da Toxicologia”, foram abordados não só os “velhos conhecidos” mercúrio e outros metais, pesticidas ou inclusivamente as tradicionais drogas de abuso, como também, graças à colaboração de todos os oradores, temas como novas técnicas de preparação de amostra e analíticas, novas ferramentas de avaliação toxicológica, matrizes alternativas, identificação de novos biomarcadores, avaliação dos efeitos sobre a saúde humana e sobre o meio que nos rodeia de tóxicos clássicos (mas também recentes, como as novas substâncias psicoativas), ou ainda o efeito dos microplásticos, entre muitos outros, são também apresentados.

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Núcleo de Estudantes Da Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

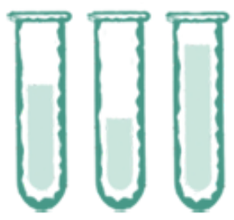
Não há dúvidas de que um evento desta natureza não é concretizável sem todos os apoios institucionais e dos nossos patrocinadores. Neste sentido, manifestamos o nosso especial agradecimento às instituições cuja colaboração foi decisiva para a realização deste evento, dentre elas o Instituto Coordenador da Investigação da Universidade da Beira Interior e a McGraw Hill.

Um agradecimento especial a todos os participantes, não só de Portugal e Espanha, mas também dos países do outro lado do Atlântico, que nos brindaram com a sua participação, sendo esta colaboração um reflexo da estreita conexão que nos une num ponto em comum: a Toxicologia.

Finalmente, gostaríamos de agradecer a todos os participantes, já que a alma de uma reunião científica são as pessoas que a ela assistem.

A Comissão Organizadora

A Comissão Científica



JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**



Mensaje del Comité Organizador y Científico

La celebración de las III Jornadas Ibéricas de Toxicología supone la culminación de una ilusión y esfuerzo, para todos los miembros del Comité Organizador y Científico con la esperanza de que satisfaga las expectativas que en la misma han depositado. Ha sido también para nosotros un honor preparar nuevamente estas Jornadas, contando con los desafíos que supuso desde las primeras Jornadas el hecho de ser el primer evento dedicado exclusivamente a la Toxicología en Portugal y poder celebrarlo en una joven Universidad como la Universidade da Beira Interior. Ha sido un año sin duda desafiante en todos los aspectos, como el lema de las Jornadas! del cual todos hemos aprendido nuevas formas de estar, de apreciar las pequeñas cosas, vivir o sobrevivir y de comunicarnos.

Ha sido nuestra intención, y creemos que se ha logrado com êxito, contar con la presencia activa de jóvenes investigadores toxicólogos o de aquellos que están a punto de completar su formación académica y quién sabe, puedan aventurarse a entrar el campo de la Toxicología. Este año bajo la temática “Desafíos de la Toxicología” han sido abordados “viejos conocidos” como mercurio y otros metales, plaguicidas o incluso las tradicionales drogas de abuso, pero también gracias a la colaboración de todos los oradores, temas como nuevas técnicas preparación de muestras y analíticas, nuevas herramientas de evaluación toxicológica, matrices alternativas, identificación de nuevos biomarcadores, evaluación de los efectos en la salud humana y en el medio que nos rodea de tóxicos clásicos y recientes como las nuevas sustancias psicoactivas o el efecto

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

de los tan perjudiciales microplásticos, entre otros muchos temas, han sido también presentados.

No cabe duda de que un evento de estas características no puede salir adelante sin el apoyo de todos nuestros colaboradores institucionales y patrocinadores. En este sentido, manifestamos nuestro especial agradecimiento a todas aquellas instituciones que han colaborado de forma tan decisiva en este evento, entre ellos el Instituto Coordenador da Investigação de la Universidade da Beira Interior y la McGraw Hill.

Un especial agradecimiento a todos nuestros participantes de Portugal y España, pero también de todos los países del otro lado del océano atlántico que nos han brindado con su participación, siendo esta colaboración reflejo de la estrecha conexión que nos une en un punto común: la Toxicología.

Finalmente, agradecer a todos los participantes por vuestra inscripción, ya que el alma de una reunión científica lo constituyen las personas que asisten a la misma.

El Comité Organizador
El Comité Científico

UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Fundada em 1986 na Covilhã, a Universidade da Beira Interior (UBI) reúne um conjunto de Faculdades, Departamentos e Centros que se estendem por variadas áreas do conhecimento - Artes e Letras, Ciências, Ciências da Saúde, Ciências Sociais e Humanas, Engenharia – onde para além do ensino também se faz investigação nos diversos departamentos e unidades de investigação.

https://www.ubi.pt/

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Criada em 2001, a Faculdade de Ciências da Saúde localiza-se junto ao Centro Hospitalar da Cova da Beira e aposta em modelos inovadores de formação, pautados por padrões científicos, pedagógicos e assistenciais de elevada qualidade. A Faculdade de Ciências da Saúde ministra as licenciaturas em Ciências Biomédicas e Optometria e Ciências da Visão, o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Mestrado Integrado em Medicina, os Mestrados em Ciências Biomédicas, , Optometria e Ciências da Visão e os Doutoramentos em Biomedicina, Ciências Farmacêuticas e Medicina.

https://www.ubi.pt/Sites/fcsaude

HEALTH SCIENCES RESEARCH CENTRE

The Health Sciences Research Centre (CICS-UBI) is a research unit of University of Beira Interior (UBI), located at the Faculty of Health Sciences (FCS) and funded by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT). CICS-UBI mission is to carry out high-quality basic, applied and translational biomedical research, to offer advanced training opportunities and scientific careers, to promote education for the community and transfer of knowledge to the biomedical industry and society.

https://www.ubi.pt/Entidade/CICS

UBIPHARMA

O Núcleo de Estudantes de Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior – UBIPharma foi fundado em 2008 tendo vindo a crescer, demonstrando o espírito empreendedor e de associativismo dos seus estudantes. O UBIPharma tem como objetivo primordial representar os Estudantes de Ciências Farmacêuticas da UBI, defendendo os seus direitos e superiores interesses, sempre com o intuito de tornar os estudantes de hoje, nos Farmacêuticos conscientes e capazes de amanhã.

https://ubipharma.pt/sobre-nos/

FEEF

La Federación Española de Estudiantes de Farmacia (FEEF) es una organización sin fines lucrativos, no gubernamental, apartidista y no religiosa y basada en los mecanismos de funcionamiento democrático. Como federación, sus miembros son asociaciones y delegaciones de estudiantes de Farmacia de diferentes facultades españolas. Su objetivo es principalmente el de ser una herramienta útil para los estudiantes de farmacia para poder desarrollarse profesional y personalmente, y una vía que canalice la inquietud de los jóvenes profesional para poder ser un agente importante en la transformación de nuestra profesión.

https://www.feef.es/

Comissão Organizadora
Comité Organizador

Presidente da Comissão Organizadora:

Jéssica Caetano

Membros UBIPharma / Miembros UBIPharma:

Adriana Valente

Ana Conde

Bárbara Pais

Beatriz Matos

Beatriz Sousa

Bruna Romoaldo

Carolina Pombo

Catarina Pais

Catarina Pêra

Catarina Vieira

Inês Marreiros

Joana Ferreira

Johann Tinoco

Laura Dias

Margarida Rodrigues

Maria João Delgado

Maria Mesquita

Mariana Capelão

Mariana Martins

Patrícia Cerquira

Rúben Marques

Sofia Ribeiro

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Grupo de Toxicologia do Centro de Investigação em Ciências da Saúde – Universidade da Beira Interior - CICS-UBI:

Dr. Tiago Rosado

Dra. Sofia Soares

Dr. Hernâni Marques

Dra. Joana Gonçalves

Dra. Mónica Antunes

Dra. Ana Simão

Federación Española de Estudiantes Farmacia - FEEF:

Manuel Recuerda Contreras

Vitor Manoel Lacerda Aguiar

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Comissão Científica
Comité Científico

Presidente da Comissão Científica:

Professora Doutora Maria Eugenia Gallardo Alba
Professora de Toxicologia do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior

Membros:

Professor Doutor José Carlos Páscoa Marques
Vice-Reitor para a Área de Investigação e Projetos na Universidade da Beira Interior

Professora Doutora Luiza Augusta Tereza Gil Breitenfeld Granadeiro
Diretora de Curso do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior

Professora Doutora Ana Paula Duarte Coelho
Diretora do 3º Ciclo em Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior

Professora Doutora Sílvia Cristina da Cruz Marques Socorro
Coordenadora do Centro de Investigação em Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI)

Professor Doutor *Luís António Paulino Passarinha*
Faculdade de Ciências da Saúde- Universidade da Beira Interior
Research Unit on Applied Molecular Biosciences (UCIBIO)

Professor Doutor Ângelo Filipe Santos Luis
Investigador no Centro de Investigação em Ciências da Saúde - Universidade da Beira Interior (CIC-UBI)

Doutor Mário Jorge Dinis Barroso
Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses

Professor Doutor André Ricardo Tomás dos Santos Araujo Pereira
Diretor do Curso de Farmácia da Escola Superior de Saúde – Instituto Politécnico da Guarda
Laboratório de Química Aplicada (LAQV, Requimte), Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto

Doutor José Augusto Sineiro Restolho
Board da European Workplace Drug Testing Society

Dra. Iria González-Mariño
Profesora Ayudante en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Facultad de Ciencias, Universidad de Salamanca (España)

Dr. Arturo Hardisson De La Torre
Catedrático de Toxicología y Coordinador del área de Toxicología de la Universidad de La Laguna (España)
Director del Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología, Universidad de La Laguna
Director del Centro Docente e Investigador de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo (UIMP) de Santa Cruz de Tenerife

Programa

4 SEXTA JUNHO

09:15 SESSÃO INAUGURAL (WEST)

PAINEL 1 - TOXICOLOGIA FORENSE E DOPING

09:30 (WEST)
"Procedimentos pré-analíticos e analíticos na determinação de drogas de abuso em matrizes biológicas"
Doutora Cláudia Margalho. Toxicologista Forense. Especialista Superior de Medicina Legal, Serviço de Química e Toxicologia. Forenses, Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P: (Portugal)

10:15 (WEST)
"Análise de diferentes classes de substâncias dopantes em amostras de urina por LC-MS/MS ou LC-HRMS"
Dr. David Duarte Lopes Pereira. Técnico Superior - Laboratório de Análises de Dopagem, IPDJ,I.P. (Portugal)

11:00 PAUSA (WEST)

PAINEL 2 - TOXICOLOGIA ALIMENTAR

11:15 (WEST)
"Contribuições holísticas para escolha de alimentos sustentáveis disponíveis em Portugal"
Doutora Isabel Castanheira. Coordenadora do Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (Portugal)

12:00 (WEST)
"El mercurio como contaminante marino y alimentario - Riesgos para la salud"
Professor Doutor Arturo Hardisson De La Torre. Professor Catedrático de Toxicologia e Coordenador da área da Toxicologia da Universidad de La Laguna (Espanha)

13:00 PAUSA (WEST)

14:00 (WEST)
Apresentação de Comunicações Orais e Pósteres

15:30 PAUSA (WEST)

PAINEL 3 - TOXICOLOGIA FORENSE E CLÍNICA

15:45 (WEST)
"Exame Toxicológico em Cabelo – Caso da legislação brasileira"
Dra. Maristela Andraus. Advisor na área de Toxicologia do Laboratório Chromatox – Dasa (São Paulo/Brasil)

16:30 (WEST)
(Título a definir)
Dra. Maria João Caldeira. Diretora do Setor de Drogas e Toxicologia, Laboratório da Polícia Científica, Polícia Judiciária (Portugal)

17:15 (WEST)
"Para além do consumo recreativo: O potencial terapêutico da Cannabis sativa L"
Doutor José Tempero. Diretor Global Medical Affairs, Tilray (Portugal)

5 SÁBADO JUNHO

PAINEL 4 - TOXICOLOGIA VETERINÁRIA

09:30 (WEST)
"Situación actual de las intoxicaciones en animales domésticos y silvestres y nuevos retos en su diagnóstico"
Professor Francisco Soler. Professor Catedrático de Toxicologia da Universidad de Extremadura (Espanha). Coordenador do Grupo de investigación en toxicología no Instituto de Investigación de Carne y Productos Cárnicos, Universidad de Extremadura

10:15 (WEST)
"Patologia e Toxicologia Forense Veterinárias de mãos dadas"
Professora Doutora Sandra Maria da Silva Branco. Professora Auxiliar do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade de Évora (Portugal)

11:00 PAUSA (WEST)

PAINEL 5 - TOXICOLOGIA CLÍNICA

11:15 (WEST)
"Exposición prenatal al alcohol"
Professor Doutor Óscar García-Algar. Diretor do Serviço de Neonatologia de l´Hospital Clínic-Maternitat, ICGON, Hospital Clínic-Maternitat, BCNatal, Barcelona (Espanha)

12:00 (WEST)
Apresentação de Comunicações Orais e Pósteres

13:00 PAUSA (WEST)

PAINEL 6 - TOXICOLOGIA AMBIENTAL

14:00 (WEST)
"El análisis de aguas residuales con fines epidemiológicos: de la estimación del abuso de drogas a la evaluación de la exposición a contaminantes"
Professora Doutora Iria González Mariño. Professora Auxiliar no Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatologia, Facultad de Ciencias, Universidad de Salamanca (Espanha)

14:45 (WEST)
"Microplastic Global Pollution: contamination in wild animal populations and implications to 'One Health"
Professora Doutora Lúcia Maria das Candeias Guilhermino. Professora Catedrática do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto (Portugal)

15:30 (WEST)
Entrega de prémio de Melhor Comunicação Oral e Póster

15:40 SESSÃO DE ENCERRAMENTO

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

Programa

4 VIERNES JUNIO

09:15 SESIÓN INAUGURAL (WEST)

PANEL 1 - TOXICOLOGÍA FORENSE Y DOPAGE

09:30 (WEST)
"Procedimentos pré-analíticos e analíticos na determinação de drogas de abuso em matrizes biológicas"
Dra. Cláudia Margalho. Toxicóloga Forense. Especialista Superior de Medicina Legal, Servício de Química y Toxicología Forenses, Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P: (Portugal)

10:15 (WEST)
"Análise de diferentes classes de substâncias dopantes em amostras de urina por LC-MS/MS ou LC-HRMS"
Dr. David Duarte Lopes Pereira. Técnico Superior del Laboratório de Análises de Dopagem, IPDJ,I.P. (Portugal)

11:00 PAUSA (WEST)

PANEL 2 - TOXICOLOGÍA ALIMENTAR

11:15 (WEST)
"Contribuições holísticas para escolha de alimentos sustentáveis disponíveis em Portugal"
Dra. Isabel Castanheira. Coordinadora del Departamento de Alimentación y Nutrición, Instituto Nacional de Saúde Dr.Ricardo Jorge (Portugal)

12:00 (WEST)
"El mercurio como contaminante marino y alimentario - Riesgos para la salud"
Dr. Arturo Hardisson De La Torre. Professor Catedrático de Toxicología y Coordinador del área de Toxicología de la Universidad de La Laguna (España)

13:00 PAUSA (WEST)

14:00 (WEST)
Comunicaciones libres

15:30 PAUSA (WEST)

PANEL 3 - TOXICOLOGÍA FORENSE Y CLÍNICA

15:45 (WEST)
"Exame Toxicológico em Cabelo – Caso da legislação brasileira"
Dra. Maristela Andraus. Advisor en la área de Toxicología del Laboratorio Chromatox - Dasa (São Paulo/Brasil)

16:30 (WEST)
(Título a definir)
Dra. Maria João Caldeira. Directora del Sector de Drogas y Toxicología, Laboratorio de la Policía Científica, Policía Judicial (Portugal)

17:15 (WEST)
"Para além do consumo recreativo: O potencial terapêutico da Cannabis sativa L"
Dr. José Tempero. Director Global Medical Affairs, Tilray (Portugal)

5 SÁBADO JUNIO

PANEL 4 - TOXICOLOGÍA VETERINARIA

09:30 (WEST)
"Situación actual de las intoxicaciones en animales domésticos y silvestres y nuevos retos en su diagnóstico"
Dr. Francisco Soler. Catedrático de Toxicología de la Universidad de Extremadura (España). Coordinador do Grupo de investigación en toxicología, Instituto de Investigación de Carne y Productos Cárnicos, Universidad de Extremadura

10:15 (WEST)
"Patologia e Toxicologia Forense Veterinárias de mãos dadas"
Dra. Sandra Maria da Silva Branco. Profesora Ayudante del Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidade de Évora (Portugal)

11:00 PAUSA (WEST)

PANEL 5 - TOXICOLOGÍA CLÍNICA

11:15 (WEST)
"Exposición prenatal al alcohol"
Dr. Óscar García-Algar. Jefe de Servicio de Neonatología de l´Hospital Clínic-Maternitat, ICGON, Hospital Clínic-Maternitat, BCNatal, Barcelona (España)

12:00 (WEST)
Comunicaciones libres

13:00 PAUSA (WEST)

PANEL 6 - TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

14:00 (WEST)
"El análisis de aguas residuales con fines epidemiológicos: de la estimación del abuso de drogas a la evaluación de la exposición a contaminantes"
Dra. Iria González Mariño. Profesora Ayudante en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Facultad de Ciencias, Universidad de Salamanca (España)

14:45 (WEST)
"Microplastic Global Pollution: contamination in wild animal populations and implications to 'One Health"
Dra. Lúcia Maria das Candeias Guilhermino. Catedrática del Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto (Portugal)

15:30 (WEST)
Entrega de premios a las mejores comunicaciones orales y posters

15:40 SESIÓN DE CLAUSURA (WEST)

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

Painel 1

Toxicologia Forense e Doping

Panel 1

Toxicología Forense y Dopage

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Toxicologia Forense: Procedimentos pré-analíticos e analíticos na determinação de drogas de abuso em matrizes biológicas

Doutora Cláudia Margalho
Especialista Superior Principal de Medicina Legal, Serviço de Química e Toxicologia Forenses, Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P Coimbra, Portugal.

A análise toxicológica forense é, indiscutivelmente, uma ferramenta indispensável para confirmar a exposição a drogas de abuso e a muitas outras substâncias de semelhante interesse forense. Tem por principal finalidade detetar e confirmar a presença desses compostos no organismo, proceder à sua quantificação e interpretar os resultados dessas avaliações em contexto médico-legal. A variedade de matrizes biológicas que podem ser usadas na análise toxicológica muda perante uma investigação antemortem ou postmortem. Em qualquer uma das situações o sangue é sem dúvida a amostra mais utilizada. O sangue, apesar de ser uma matriz biológica de elevada complexidade, é a matriz mais adequada para avaliar situações de intoxicação, uma vez que representa a dinâmica da distribuição das drogas no organismo permitindo uma melhor correlação com o estado da pessoa no momento da morte. O recurso a diferentes matrizes biológicas postmortem, na condução de uma análise toxicológica, constitui um verdadeiro desafio para a toxicologia forense pois são necessárias metodologias suficientemente sensíveis para proceder ao isolamento das diferentes substâncias que eventualmente estejam presentes em baixas concentrações nas amostras a analisar.

As diversas matrizes biológicas contêm compostos endógenos com estruturas químicas similares a numerosas substâncias tóxicas que dificultam a sua análise laboratorial.

No entanto, entende-se que uma análise toxicológica conduzida em distintas matrizes biológicas permite uma interpretação mais completa do caso, já que cada uma delas poderá fornecer uma perspetiva particular sobre a anterior exposição a determinadas substâncias. Mais problemáticos, e não menos raros, são os casos em que a quantidade de sangue é insuficiente ou mesmo inexistente, para realizar a investigação pericial. A qualidade de uma amostra biológica enviada para o laboratório de toxicologia forense é um fator determinante na correta determinação de qualquer substância química que nela esteja presente. Para além dos fenómenos de redistribuição postmortem que podem ocorrer no cadáver e afetar a concentração das substâncias, há também que considerar a influência das alterações provocadas pela ação de micro-organismos durante o período de armazenamento das amostras biológicas. Por outro lado, é um facto que se a colheita, acondicionamento, transporte e conservação das amostras não for realizada com o máximo rigor, toda a análise laboratorial poderá ficar comprometida. Deste modo, é fundamental e determinante, diminuir ao máximo o número de fatores externos que possam contribuir para a degradação destas matrizes complexas e consequentemente interferir na interpretação dos resultados toxicológicos.

Cláudia Isabel Reis Margalho

Licenciada em Bioquímica pela Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, em 1992.
Em 2002 concluiu o Curso Superior de Medicina Legal da Delegação de Coimbra do Instituto Nacional de Medicina Legal.
Mestre em Medicina Legal, área de Toxicologia Forense pela Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra em 2005.
Doutorada em Bioquímica, área de Toxicologia Forense pelo Centro de Investigação de Ciências da Saúde Universidade da Beira Interior e Universidade de Santiago de Compostela (CICS-UBI/USC), 2017.

Carreira Profissional:
Especialista Superior Principal de Medicina Legal.
Exerce funções no Serviço de Química e Toxicologia Forenses (SQTFC), Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P. onde é responsável Técnica da área de cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massa (GC/MS).
Responsável pela validação de metodologias analíticas para a determinação de substâncias detetadas por GC/MS: Drogas de abuso, novas substâncias psicoativas, medicamentos e pesticidas; Responsável pelas análises de determinação de drogas de abuso e de novas substâncias psicoativas.
Responsável pela realização de controlos de qualidade externos organizados por entidades estrangeiras independentes para determinação de drogas de abuso, novas substâncias psicoativas e drogas de substituição em soro, sangue, urina e matrizes alternativas.
Integrou a equipa de trabalho para a implementação do Sistema de Gestão da Qualidade do SQTFC.
Desenvolveu todo o trabalho que permitiu a acreditação dos ensaios de drogas de abuso por GC/MS no SQTFC.

Cláudia Isabel Reis Margalho

Participação em Projetos de Investigação:

Orientadora de várias teses de mestrado no SQTFC.

Orientadora de vários estágios de licenciatura, estágios voluntários de curta e longa duração e da formação de médicos internos da especialidade de Medicina Legal, no SQTFC.

Validação de diversas metodologias analíticas para a análise de drogas de abuso, medicamentos e pesticidas, por GC/MS com recurso a técnicas de extração: SPE, SPME, Líquido-líquido.

Colaboração no Programa do Projeto de Investigação para Apoio ao Combate à Toxicodependência.

Participação no Projeto DRUID ("Driving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines") financiado pela Comissão Europeia.

Colaboração na equipa de investigação do grupo de ciências forenses pertencente às unidades de I&D financiadas pela FCT. Colaboração no grupo CENCIFOR (Centro de Ciências Forenses).

Integrou Comissões Científicas de vários congressos de Medicina Legal e Ciências Forenses.

Realizou diversos cursos na área de GC/MS e da validação de metodologias analíticas.

Arguente de diversas teses de mestrado, membro de júri de diversos concursos públicos.

Revisora de artigos científicos submetidos para publicação em várias revistas internacionais.

Cláudia Isabel Reis Margalho

Elaboração de vários pareceres técnico-científicos na área de Toxicologia Forense (drogas de abuso, álcool, medicamentos e pesticidas).
Leciona vários módulos da disciplina de toxicologia forense em diversos cursos de mestrado (Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Universidade da Beira Interior e Universidade de Aveiro)
Participou em reuniões científicas nacionais e internacionais com 126 apresentações.
Autora, ou co-autora, de 35 artigos publicados em revistas científicas internacionais indexadas.
Sociedades Científicas a que pertence: Academia Internacional de Medicina Legal (IALM), Society of Hair Testing (SoHT), The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT), Asociacion Española de Toxicología (AETOX).

Análise de diferentes classes de substâncias dopantes em amostras de urina por **LC-MS/MS** ou **LC-HRMS**

David Duarte Lopes Pereira
Técnico Superior - Laboratório de Análises de Dopagem, IPDJ,I.P. (Portugal)

Uma análise de *doping* consiste em duas etapas principais: a primeira, uma triagem para pesquisa de um conjunto alargado de diferentes substâncias (Esteróides, β2-agonistas, Diuréticos, Estimulantes, Narcóticos, Canabinóides Sintéticos, Glucocorticosteróides, β-Bloqueantes, entre outros), com base na Lista de Substâncias Proibidas da WADA (*World Anti-Doping Agency*), em amostras de urina, por LC-MS/MS, LC-HRMS ou GC-MS/MS; e a segunda que consiste numa confirmação qualitativa e/ou quantitativa da substância detetada na primeira etapa.

Desta forma, é necessário ter um método de triagem que seja capaz de detetar o maior número possível dessas substâncias de uma forma simples, eficiente e relativamente rápida (de forma a cumprir prazos de resposta) e que cumpra com os requisitos impostos pela WADA, como por exemplo Limites de Deteção de acordo com os níveis de reportação; e ter métodos de confirmação específicos, seletivos e adequados para distinguir uma amostra positiva de uma amostra negativa.

O desafio passa por conseguir pesquisar num único método todas essas substâncias (+ de 300), exigidas pela WADA, ainda que estas tenham propriedades físico-químicas distintas o que resulta por exemplo na dificuldade em distinguir isómeros; em analisar substâncias de elevada polaridade, ou em identificar metabolitos conjugados de algumas substâncias.

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Assim, foi desenvolvido, validado e acreditado um método de triagem multi-resíduos por LC-MS/MS ou LC-HRMS relativamente rápido e simples, que com os devidos compromissos, é capaz de detetar todas as substâncias exigidas pela WADA, aos níveis de concentração exigidos e foram também desenvolvidos, validados e acreditados métodos de confirmação qualitativa específicos e seletivos, capazes de confirmar a presença ou a ausência da substância detetada em triagem e/ou distinguir substâncias que não são distinguidas pelo método de triagem.

David Duarte Lopes Pereira

Licenciatura em Ciências Forenses e Criminais.
Mestrado em Química, com especialização em Química Analítica.
Estágio no Serviço de Química e Toxicologia Forenses do INMLCF, I.P.
Técnico Superior de Laboratório - Químico Analítico na empresa LABIAGRO, Laboratório Químico, Agroalimentar e Microbiológico.
Técnico Especialista - Labor Qualitas, Grupo Tecnimede.
Técnico Superior - Laboratório de Análises de Dopagem, IPDJ,I.P.

Painel 2

Toxicologia Alimentar

Panel 2

Toxicología Alimentar

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

Contribuições holísticas para escolha de alimentos sustentáveis disponíveis em Portugal

Isabel Castanheira
Coordenadora do Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (Portugal)

Recentemente os trabalhos publicados na literatura científica e depois validados pela WHO e pela EFSA introduziram o conceito holístico nas escolhas alimentares saudáveis e sustentáveis. A bissetriz dos alimentos em nutrientes e contaminantes assume uma grande relevância para a congruência entre os diferentes intervenientes da cadeia alimentar. O sucesso desta estratégia abrange todos os participantes do que se designa hoje como sistemas alimentares. Os produtores de alimentos e outros intervenientes da cadeia vão gizar os seus procedimentos com conceitos que incorporam conhecimentos emergentes, mas robustos e são, também, facilitadores da produção de alimentos saudáveis. Os decisores políticos que elaboraram recomendações inserindo a alimentação como determinante de saúde. Os consumidores porque fazem escolhas assentes em evidência científica. Os profissionais de nutrição porque elaboram planos alimentares sustentados pela abrangência da combinação entre o perfil nutricional e o conhecimento real dos perigos químicos e microbiológicos dos alimentos que compõem o padrão alimentar mais adequado ao objetivo a alcançar.

Assim, nesta apresentação são revisitados os últimos estudos publicados na literatura científica, sobre a temática da caracterização dos alimentos, mas, alicerçada pelos conceitos holísticos que incluem a nutrição, toxicologia e microbiologia.

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

A abordagem a apresentar incidirá na prevenção da doença e na promoção da saúde integrada nos princípios da sustentabilidade. Será exemplificada, com os trabalhos realizados e a decorrer, no INSA no âmbito de projetos de investigação financiados e patrocinados pelas entidades internacionais com o Horizonte 2020, EFSA e WHO. Neste contexto, serão expostas as diferentes fases do percurso laboratorial como: a) amostragem; b) seleção do alimento e modo de confeção; c) métodos analíticos de elevada sensibilidade; d) a metrologia da alimentação e nutrição; e) a importância dos métodos in vivo e das abordagens "in silico"; f) modulação da microbiota.

A experiência do INSA na abordagem passo a passo destas metodologias e que inclui a capacitação de equipas nacionais de outros países será apresentada através de um estudo de caso de alimentos à base de arroz na sua vertente nutricional, toxicológica e microbiológica.

As plataformas digitais sob a custódia do INSA com os princípios da designada "FAIR data" serão também abordadas e divulgados os sites nacionais sobre a responsabilidade do INSA que permitem o acesso aos dados analíticos nacionais e internacionais disponíveis em plataformas digitais transversais e credenciadas.

As incertezas das escolhas restritivas são realçadas na ótica da FAO, FDA, FSANZ e EFSA e outras entidades de domínio nacional escrutinadas pelas entidades reguladoras de maior intervenção. Serão também avaliadas as métricas comparáveis da natureza toxicológica, microbiológica ou nutricional, já em uso, que estão a permitir estimar o balanço do risco-benefício associado ao consumo do alimento alvo.

Em súmula será debatida a abordagem holística da alimentação numa perspetiva emergente que permite o reforço de equipas multidisciplinares sendo indutora de uma cultura para escolhas alimentares assentes na promoção da saúde pública. Trata-se também de uma mudança de abordagem que permite reduzir a exposição a contaminantes sem diabolizar alimentos com incidência nos indicadores de saúde e de qualidade de vida que importa priorizar.

Isabel Castanheira

Licenciada em Farmácia pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Investigadora Principal da Carreira de Investigação Científica do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Coordenadora do Departamento de Alimentação e Nutrição do INSA. Membro do centro colaborativo da OMS para nutrição e obesidade infantil. Membro do Comitê Técnico IMEKO para Metrologia em Alimentos e Nutrição). Co--Orientadora de teses de doutoramento e dissertações de mestrado com enfoque na caracterização de alimentos. Investigador de vários projetos financiados pela União Europeia. Editor associado da Food Chemistry (Elsevier), Food Measurement, membro do conselho editorial do Journal of Food Composition and Analysis (Elsevier), and Foods (MPDI. Revisor de artigos científicos em revistas indexadas principalmente de primeiro quartil (classificação Scimago) e da Sociedade Americana de Nutrição (ASN). Membro da ASN. Autor de mais de mais de uma centena de artigos científicas em diversas áreas, desde metrologia até toxicologia alimentar, com alta participação de publicações em revistas do primeiro quartil (SciMAGO Rank). Coordenadora nacional de estudos colaborativos internacionais com foco em campanhas de certificação conducentes aos valores de referência atribuídos a materiais de referência certificados. Palestrante convidada em cursos de pós-graduação patrocinados pela União Europeia pela FAO e por diversas sociedades de nutrição e alimentação saudável, nos cinco continentes. Os seus interesses também abrangem o estudo do conteúdo de nutrientes e contaminantes de preocupação emergente em alimentos. ORCID: 0000-0001-7273-0676.

El mercurio como contaminante marino y alimentario - Riesgos para la salud

Arturo Hardisson De La Torre
Catedrático de Toxicología y Coordinador del área de Toxicología de la Universidad de La Laguna (España)
Director del Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología, Universidad de La Laguna
Director del Centro Docente e Investigador de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo (UIMP) de Santa Cruz de Tenerife

Objetivo: Exponer los riesgos para la salud del mercurio presente en los alimentos, especialmente, en los alimentos de origen marino y, evaluar la exposición dietética a mercurio en la población de las Islas Canarias.
Introducción: El mercurio es un metal tóxico que se caracteriza por su tendencia a la bioacumulación y biomagnificación en la cadena trófica. Las actividades humanas, tales como la minería, plantas cloro-alcalinas, industrias papeleras y eléctricas, son las responsables del aumento en los niveles de mercurio en el ambiente. Siendo de mayor interés, el mercurio que se encuentra en los medios acuáticos, debido a la gran capacidad de acumulación en peces, en especial, en los pescados azules, y a la ingesta de éstos por parte del hombre, que se expone a los mayores contenidos de mercurio.
Metodología: Se ha determinado el contenido de mercurio total en alimentos comercializados en las Islas Canarias mediante espectrofotometría de absorción atómica de vapor frío.
Resultados: El grupo de alimentos que registró la mayor concentración media de mercurio total fue el de los pescados (118.9 µg/kg).

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Considerando el consumo medio establecido en la encuesta de consumo de la población canaria (45,8 g/día), la ingesta dietética de mercurio total por persona es de 5,45 µg/día. Este consumo está muy por debajo del valor de ingesta semanal tolerable (IST) establecido para el mercurio total.

Conclusiones: La ingesta de mercurio total en la población canaria es menor al valor de IST fijado. Se demuestra que la fuente dietética principal es el pescado, especialmente, el pescado azul. Conviene que sean los ginecólogos y los pediatras, los que recomienden a las embarazadas y a los niños menores de 3 años no ingerir pescados grasos depredadores de gran tamaño (atún rojo). Así como, recomendar a los niños menores de 12 años una ingesta semanal de estos peces no superior a 50 g. De esa manera se evitarían malas interpretaciones que se extrapolan a la población general y que causan daños económicos a nuestra potente industria pesquera y de transformación. Se hace imprescindible el control de los pescados provenientes de "PAISES TERCEROS", con objeto de asegurar la trazabilidad de estos alimentos. Sería deseable que se realizaran trabajos serios de "Evaluación del riesgo", teniendo en cuenta siempre las recomendaciones de la FAO/OMS, de la EFSA, o de la EPA Norteamericana.

Arturo Hardisson De La Torre

Formación académica:

Licenciado en Farmacia por la Universidad de La Laguna (ULL), con la calificación de sobresaliente (Examen de Grado) y Premio Extraordinario (junio de 1979).
Diplomado en Sanidad por la Escuela Nacional de Sanidad (1982).
Doctor en Farmacia por la Universidad de La Laguna con la calificación de sobresaliente cum laude (mayo de 2984).
Cursados 4 cursos de la Licenciatura de Ciencias Químicas (ULL y UNED) (1990).
Farmacéutico especialista en Análisis y Control de Medicamentos y Drogas (2002).

Carrera profesional:

Inspector Farmacéutico Municipal adscrito a la Dirección Territorial de Salud de Santa Cruz de Tenerife (1980-1986).
Profesor Titular Numerario de la ULL de Química Analítica (1986-1993).
Profesor Titular Numerario de la ULL de Medicina Preventiva y Salud Pública (1993-1996).
Profesor Titular Numerario de la ULL de Toxicología y Legislación Sanitaria (1996-1998).
Catedrático de Toxicología de la ULL y Coordinador del Área de Toxicología (1998 –actualidad).
Vocal de Alimentación del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Santa Cruz de Tenerife (1983 – 2020).
Medalla del Consejo General de Colegios de Farmacéuticos de España (2013).

Arturo Hardisson De La Torre

Vocal de la Asociación Española de Toxicología (1993-1996 y 2011-2016).
Miembro del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) (2013-2016).
Director del Centro Docente e Investigador de la Universidad Internacional Menéndez Pelayo (UIMP) de Santa Cruz de Tenerife (2016 – actualidad).
Director del Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología (2019 – actualidad).

Carrera investigadora:
Estancias Postdoctorales en el Istituto Superiore Di Sanità y en la Universidad Tor Vergata de Roma (1997).
Publicados más de 370 trabajos en revistas nacionales y extranjeras (más de 150 internacionales).
Comunicadas más de 300 ponencias y comunicaciones en Congresos Nacionales e Internacionales.
Dirigidas 38 Tesis Doctorales (5 con Premio Extraordinario) y 22 Tesinas de Licenciatura.
Concedidos 5 sexenios de investigación (activos).
Responsable del Grupo de Toxicología Alimentaria y Ambiental de la Universidad de La Laguna.
Línea de investigación: monitorización, evaluación del riesgo de metales tóxicos, elementos traza y aniones (fluoruro, nitratos, etc) en muestras alimentarias y medioambientales.

Painel 3

Toxicologia Forense e Clínica

Panel 3

Toxicología Forense y Clínica

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

Exame Toxicológico em Cabelo – Caso da Legislação Brasileira

Maristela Andraus
Advisor na área de Toxicologia do Laboratório Chromatox – Dasa (São Paulo/Brasil)

Esta apresentação fala sobre aspectos biológicos e técnicos da matriz cabelo e de que forma a análise toxicológica de drogas em cabelo ou pêlo corporal pode ser usada na tomada de decisões.

III JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Maristela Haddad Andraus

Maristela Haddad Andraus graduou-se em 1988 em Farmácia e Bioquímica pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP e Mestrado em Análises Toxicológicas pela mesma universidade em 1996. Começou sua vida profissional em 1991 como analista do Laboratório de Controle de Doping do Jockey Club de São Paulo, ficando nesta área por 9 anos. Trabalhou na área de bioequivalência para lançamento de medicamentos genéricos em alguns laboratórios até constituir em 2000 com mais duas sócias, o laboratório ChromAnalysis. Durante este período, a Chromanalysis foi cadastrada na Anvisa como um dos laboratórios capacitados para realizar a parte analítica dos estudos de bioequivalência e Maristela atuava como Diretora Técnica. Na área de controle de doping, a ChromAnalysis era responsável pelo controle de doping dos mais importantes Hipódromos e Associações nacionais, como o Jockey Club do Rio de Janeiro, Sorocaba, Associação Brasileira do Quarto de Milha e Cavalo Árabe. Durante este período, Maristela fez estágio nos laboratórios de controle de doping da França e do Reino Unido. Em 2011, as sócias da ChromAnalysis juntaram-se a um dos mais renomados laboratórios de exames toxicológicos britânico, Cansford Labs, e formaram a ChromaTox, laboratório especializado em análises toxicológicas. Maristela tornou-se a Diretora Executiva da companhia.A ChromaTox foi em 2013, o primeiro laboratório nacional a ter a acreditação no Inmetro na ISO 17025 para análises toxicológicas em cabelo e urina e controle de doping em cavalos.

Maristela Haddad Andraus

Em 2015, com a publicação da lei do caminhoneiro, o Denatran passou a credenciar laboratórios para fazer o exame toxicológico em motoristas profissionais (categorias C, D e E) e a Chromatox foi um dos primeiros a conseguir este cadastro. Maristela tornou-se membro da Society of Hair Testing (SoHT) em 2010 e em 2014 foi eleita membro do Board Executivo da SoHT. Em junho de 2019 o grupo Dasa comprou o Laboratório ChromaTox e Maristela manteve-se como Consultora da área de Toxicologia do grupo.

Visita ao Setor de Drogas e Toxicologia do Laboratório de Polícia Científica da Polícia Judiciária

Maria João Caldeira
Diretora do Setor de Drogas e Toxicologia, Laboratório da Polícia Científica, Polícia Judiciária (Portugal)

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Maria João Nunes Vilela Caldeira

Senior Forensic Expert (Drugs and Toxicology) for the last 20 years and actual Head of Drugs and Toxicology Sector Forensic Laboratory of Portuguese Criminal Police (since 2016)
Degree in Applied Chemistry; Researcher on Organic Synthesis; Post-graduation in Legal Medicine and Forensic Sciences.
Participates in national and international meetings and working groups, representing the Portuguese Forensic Lab.

<u>Last publications:</u>

Helena Gaspar, Soraia Bronze, Catarina Oliveira, Bruno L. Victor, Miguel Machuqueiro, Rita Pacheco, Maria João Caldeira, Susana Santos, (2018). Proactive response to tackle the threat of emerging drugs: Synthesis and toxicity evaluation of new cathinones. Forensic Science International, 290, 146-156. ISSN 0379-0738.

Lopes BT, Caldeira MJ, Gaspar H, Antunes AMM. Metabolic Profile of Four Selected Cathinones in Microsome Incubations: Identification of Phase I and II Metabolites by Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry. Front Chem. 2021 Jan 12;8:609251. doi: 10.3389/fchem.2020.609251. PMID: 33511100; PMCID: PMC7835677.

Gonçalves JL, Alves VL, Aguiar J, Caldeira MJ, Teixeira HM, Câmara JS. Structure Assignment of Seized Products Containing Cathinone Derivatives Using High Resolution Analytical Techniques. Metabolites. 2021 Feb 27;11(3):144. doi: 10.3390/metabo11030144. PMID: 33673683; PMCID: PMC7997216.

Antunes M, Sequeira M, de Caires Pereira M, Caldeira MJ, Santos S, Franco J, Barroso M, Gaspar H. Determination of Selected Cathinones in Blood by Solid-Phase Extraction and GC-MS. J Anal Toxicol. 2021 Mar 12;45(3):233-242. doi: 10.1093/jat/bkaa074. PMID: 32588896.

Para além do consumo recreativo: O potencial terapêutico da *Cannabis sativa L.*

José Tempero
Director Global Medical Affairs, Tilray (Portugal)

Nesta comunicação será apresentado um breve resumo das origens do uso terapêutico da Cannabis sativa L. e da actual situação regulamentar das substâncias e preparações à base da planta da canábis para fins terapêuticos a nível mundial, com principal foco na Europa.

Seguidamente é apresentado um referencial comparativo da análise benefício-risco aplicada a medicamentos, frente ao estatuto regulamentar das substâncias e preparações à base da planta da canábis para fins terapêuticos. Serão refletidos temas como o uso off-label, a garantia de qualidade, e formas de capturar a evidência clínica desta nova classe de produtos e a sua evolução a curto e médio prazo.

José Tempero

Diretor Global de Assuntos Médicos na Tilray desde julho de 2019, estando atualmente sediado na cidade alemã de Neuss.
Licenciado em Ciências Farmacêuticas pela FFUL e mestre em Saúde Pública pela ENSP, tendo também concluído o *Talent Program* da Frankfurt *School of Finance and Management e o Leadership Development Program* da INSEAD *Business School.*

Desenvolveu trabalho nos últimos 13 anos na Indústria Farmacêutica, primeiramente em Portugal e posteriormente na Alemanha, a nível internacional, onde desempenhou funções em vários departamentos como assuntos regulamentares, direção técnica, acesso ao mercado e direção de assuntos médicos.

Atualmente tem como responsabilidades garantir e fomentar o rigor científico das atividades da Tilray, nomeadamente nas suas interações com doentes, profissionais de saúde, reguladores e decisores políticos.

Contribui igualmente para o desenvolvimento de estudos clínicos em parceria com instituições académicas ou de investigação, que permitam melhor caracterizar o valor terapêutico das substâncias e preparações à base da planta da canábis para fins medicinais.

Painel 4

Toxicologia Veterinária

Panel 4

Toxicología Veterinaria

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior

UBIPHARMA

Situación actual de las intoxicaciones en animales domésticos y silvestres y nuevos retos en su diagnóstico

Francisco Soler Rodríguez
Catedrático de Toxicología de la Universidad de Extremadura (España)
Coordinador do Grupo de investigación en toxicología, Instituto de Investigación de Carne y Productos Cárnicos, Universidad de Extremadura

El conocimiento de las intoxicaciones (intencionadas o no) en animales es importante por diversas razones. En Toxicología clínica es importante para que el colectivo veterinario esté más preparado ante los posibles problemas que se le presenta en su actividad clínica diaria. Además, el conocimiento de las intoxicaciones intencionadas (envenenamientos) en la fauna es de vital importancia como elemento a tener en cuenta en la renovación de productos químicos (particularmente plaguicidas) por parte de las autoridades nacionales y europeas, e incluso en el desarrollo y aplicación de diversas estrategias de lucha contra el uso de veneno, sobre todo como medida de protección en especies que tengan reconocido algún tipo de protección (especies en peligro de extinción). Sobre estos hechos se presentarán los datos recopilados por el Servicio de Diagnóstico toxicológico de nuestro laboratorio desde sus inicios. Para un correcto diagnóstico, y por tanto conocimiento de la epidemiología de las intoxicaciones, es importante disponer de adecuados equipos, tecnologías y metodologías de análisis químico. Ellos deben cumplir unos requerimientos en sensibilidad y especificidad que permitan su aplicación en todos los ámbitos, particularmente cuando se tiene que elaborar informes periciales que acabarán en un tribunal de Justicia, siendo esto uno de los principales retos a los que nos encontramos actualmente.

Francisco Soler Rodríguez

Licenciado (1984) y Doctor (1988) en Veterinaria por la Facultad de Veterinaria de Córdoba (España), actualmente es Catedrático del área de Toxicología en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura (España).

Coordinador del grupo de investigación en Toxicología (referencia CTS 010 del Catálogo de Grupos de Investigación de la Junta de Extremadura, España) siendo las líneas de investigación principales las siguientes: diagnóstico analítico de intoxicaciones en animales, contaminación ambiental por compuestos persistentes inorgánicos (metales pesados) y orgánicos (plaguicidas y compuestos clorados) en animales domésticos y silvestres, y estudio de los efectos tóxicos en animales mediante el uso de biomarcadores.

Ha sido miembro de la Junta directiva de la Asociación Española de Toxicología (AETOX) y fundador y actualmente Coordinador de la Sección especializada de Toxicología veterinaria de la AETOX.

Patologia e Toxicologia Forense Veterinárias de mãos dadas

Sandra Maria da Silva Branco
Professora Auxiliar do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade de Évora (Portugal)
Responsável pelo Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Veterinário da Universidade de Évora
Responsável na UE a Rede Nacional de Centros de Necrópsia e Toxicologia Forense

O termo forense refere-se à aplicação de conhecimentos científicos a matéria do foro jurídico constituindo um suporte para investigação de processos judiciais de diferentes naturezas.

A medicina veterinária forense é relativamente recente em Portugal, não porque não tenha havido desde sempre crimes contra animais de espécies domésticas e silvestres, mas sim porque o reconhecimento do animal como ser senciente só foi confirmado pela Lei 8/2017 de 3 de março, bem como o reconhecimento de crimes contra animais de companhia. Os crimes contra o ambiente e natureza (espécies protegidas de fauna silvestre) são enquadrados pela Lei 56/2011 de 15 de novembro.

A grande maioria dos processos que chegam ao laboratório de Anatomia Patológica por ordem dos tribunais visam apurar se a causa da morte foi natural ou de natureza criminal. Uma grande parte dos crimes contra animais diz respeito à ingestão de substâncias tóxicas. As intoxicações por estas substâncias podem ser acidentais ou criminais.

Compete ao médico veterinário patologista realizar a necrópsia e averiguar a causa da morte. Para cumprir este objetivo, e no caso de suspeita de envenenamento, deve proceder ao envio de amostras para laboratório de toxicologia. As substâncias mais frequentemente identificadas correspondem a inseticidas/moluscicidas (carbamatos e organofosforados), rodenticidas (dicumarínicos) e estricnina.

Existe a nível nacional uma rede de centros de necrópsia e toxicologia veterinária que visa identificar as principais causas de intoxicação em espécies silvestres protegidas ou com estatuto de ameaça e que neste momento se estendeu aos animais de companhia.

Sandra Maria da Silva Branco

Licenciada em Medicina Veterinária pela Universidade Técnica de Lisboa em 1996. Doutorada (PhD) em Medicina Veterinária pela Universidade de Évora (UE) em 2010. Atualmente é professora Auxiliar na UE e responsável pelo Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Veterinário da UE. É membro integrado do MED (Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento). Integra a rede Nacional de Centros de Necropsia e Toxicologia Forense. A sua área de atividade é a anatomia patológica veterinária.

Integra a Direção do Departamento de Medicina Veterinária da UE, a Assembleia do Instituto de Investigação e Formação Avançada da Universidade de Évora e é membro do Conselho do Hospital Veterinário da UE. É membro da Ordem dos Médicos Veterinários e da Sociedade Portuguesa de Patologia Animal.

Painel 5

Toxicologia Clínica

Panel 5

Toxicología Clínica

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Exposición prenatal al alcohol

Óscar García-Algar
Jefe de Servicio de Neonatología de l'Hospital Clínic-Maternitat, ICGON, Hospital Clínic-Maternitat, BCNatal, Barcelona (España)
Coordinador del Grup de Recerca Infància i Entorn (GRIE), IDIBAPS, Barcelona
Profesor Asociado de Pediatría, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Barcelona
Miembro del Comité Directivo de EUFASD Alliance, Estocolmo. CSO de Psicoterapia VR, Barcelona

El útero materno es el ambiente en el que se desarrolla el embrión y el feto, que está expuesto a todas las sustancias a las que está expuesta la madre de forma activa o pasiva y que le llegan a través de la placenta. El alcohol es el principal teratógeno y la principal causa de retraso mental en el mundo occidental. La prevalencia de consumo de alcohol durante la gestación no está bien establecida. Su principal efecto es el Trastorno del Espectro Alcohólico Fetal.

Óscar García-Algar

LDoctor en Medicina, Universidad de Barcelona. Pediatra.
Jefe de Servicio de Neonatología, ICGON, Hospital Clínic-Maternitat, BCNatal, Barcelona.
Coordinador del GRIE (Grup de Recerca Infància i Entorn), IDIBAPS, Barcelona.
Profesor Asociado de Pediatría, Universidad de Barcelona.
Miembro del Comité Directivo de EUFASD Alliance, Estocolmo. CSO de Psicoterapia VR, Barcelona.

Painel 6

Toxicologia Ambiental

Panel 6

Toxicología Ambiental

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

El análisis de aguas residuales con fines epidemiológicos: de la estimación del abuso de drogas a la evaluación de la exposición a contaminantes

Iria González-Mariño
Profesora Ayudante en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Facultad de Ciencias, Universidad de Salamanca (España)

En el último año, el análisis de aguas residuales se ha posicionado como una herramienta de elevada utilidad en estudios epidemiológicos: a través de la determinación de partículas de SARS-Cov-2 en agua residual se puede obtener información objetiva y en tiempo real sobre la evolución de la pandemia de Covid-19 en una localidad. Similarmente, la determinación de productos de excreción metabólica humana puede correlacionarse con el estilo de vida (e.g. consumo de sustancias, hábitos alimenticios) o con la exposición a agentes contaminantes en la población que genera las aguas analizadas.

En esta presentación se resumirán los fundamentos, hitos y principales aplicaciones químicas del análisis de aguas residuales con fines epidemiológicos (WBE, del inglés wastewater-based epidemiology): desde los primeros estudios centrados en evaluar el consumo de drogas de abuso, hasta el establecimiento de una red de colaboración internacional (SCORE) y el reconocimiento de la metodología como indicador complementario en abuso de sustancias por la European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) y por la United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC).

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Se abordará su extensión a la estimación del consumo de sustancias psicoactivas legales (alcohol, tabaco, nuevas sustancias psicoactivas) y las últimas aplicaciones sobre monitorización de la exposición poblacional a agentes contaminantes. El objetivo es proporcionar una visión amplia y genérica sobre WBE y sobre los múltiples campos en los que puede aplicarse.

Iria González-Mariño

González Mariño es licenciada en Química por la Universidad de Santiago de Compostela y doctora por la misma Universidad (2012). Su tesis se centró en el estudio medioambiental de nuevos contaminantes emergentes mediante cromatografía-espectrometría de masas y fue realizada bajo la supervisión de los doctores José Benito Quintana e Isaac Rodríguez. Durante este período, realizó dos estancias de investigación en el Helmholtz Centre for Environmental Research de Leipzig, Alemania, y en el Instituto de Estudios Ambientales de Amsterdam. En el 2013 trabajó como Oficial de Proyectos Científicos y Técnicos en el Instituto de Materiales y Medidas de Referencia de la Comisión Europea, Bélgica. En el 2014 se unió al grupo de la Dra Sara Castiglioni en el Instituto Mario Negri de Investigación Farmacológica de Milán para desarrollar un proyecto postdoctoral centrado en la determinación de nuevas sustancias psicoactivas en agua residual. Durante el 2016-2019 se reincorporó a la Universidad de Santiago de Compostela como investigadora postdoctoral, y en abril de 2019 consiguió una plaza de Profesora Ayudante Doctora en la Universidad de Salamanca, donde desarrolla su actividad actual.

Su investigación se centra en la determinación de contaminantes orgánicos emergentes y sus metabolitos en matrices biológicas y ambientales con un doble objetivo: (i) estimar la exposición a las sustancias objetivo; y (ii) evaluar su presencia ambiental y procesos de transformación. Ha participado en 11 proyectos de investigación competitivos (5 nacionales, 4 regionales y 2 locales) siendo la investigadora principal en 3 de ellos.

Iria González-Mariño

Es co-autora de 4 capítulos de libro (2 como primera autora) y 34 artículos de investigación en revistas indexadas en el JCR (23 como primera autora y/o autora de correspondencia). En conjunto, sus publicaciones han recibido más de 1400 citas (índice h 20 – SCOPUS) y los resultados de las investigaciones en las que ha participado han sido presentados en numerosos congresos nacionales e internacionales a través de 39 comunicaciones.

Microplastic Global Pollution: contamination in wild animal populations and implications to 'One Health'

Lúcia Maria das Candeias Guilhermino
Professora Catedrática do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto (Portugal)
Diretora do Laboratório de Ecotoxicologia e Ecologia (ECOTOX), Universidade do Porto
Investigadora Responsável pela Linha Alterações Globais e Serviços dos Ecossistemas do Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR)
Investigadora Responsável do Grupo de Investigação Vias de Contaminação e Mecanismos de Toxicidade do CIIMAR
Investigadora Responsável da Equipa de Investigação em Ecotoxicologia, Ecologia do Stresse e Saúde Ambiental do CIIMAR

Microplastics (MPs) are global pollutants with considerable environmental persistence. They are long-range transported by different ways, such as air and marine currents, rivers, soil lixiviation, and organisms. MPs present in the environment are very diverse, generally contain several other chemicals and may also have microorganisms, including pathogenic ones. Such chemicals and microorganisms "travel" with MPs reaching regions far away from their original sources.

Marine animals worldwide have been found to be contaminated with MPs. In the last years, many studies carried out mainly with model MPs in laboratory conditions documented the ability of MPs and/or associated chemicals to induce a diversity of toxic effects in marine and other animals, such as neurotoxicity, genetic alterations, immunotoxicity, oxidative stress and damage, reproductive and developmental toxicity, population growth reduction and effects over generations. Such findings have been raising high concern in relation to the potential effects of MPs on animal and environmental health, including regarding the sustainability of wild marine animal populations used as seafood with potential implications to human food security. The studies relating MP contamination and effects in wild populations are still limited and more knowledge is needed to improve environmental and human safety, and food security.

Humans are likely exposed to MPs mainly through contaminated food, air and drinking water. Seafood may be an important route of human exposure to MPs. Thus, the contamination of wild marine animals used as food source to humans, and the toxic effects of MPs found in animals also raise concern in relation to human health and wellbeing. The global marine pollution by MPs and its potential implications to Ocean and human health are a complex paradigm requiring approaches in line with the ´One Health' concept.

In the present study, data obtained in the scope of previous and ongoing projects, were analysed to investigate biological effects in wild populations of marine and estuarine fish, widely used as seafood, in relation to MP contamination and abiotic variation, and to estimate the human exposure to MPs through the consumption of food products originated from such fish.

Fish from six different species (Dicentrarchus labrax, Trachurus trachurus, Scomber colias) were collect in Portuguese waters of the NE Atlantic Ocean (Dicentrarchus labrax, Trachurus trachurus, Scomber colias) or in the Minho River estuary, NW Iberian Peninsula (Platichthys flesus, Mugil cephalus, C. carpio). For ethical reasons, all the fish from the NW Atlantic Ocean and most of those from the estuary of Minho River were obtained from commercial or local fishery and aimed at being sold for human consumption. Fish gastrointestinal tract, gills, and internal tissues (e.g. liver, muscle) were sampled and analysed for MP contamination. Selected samples for biomarkers determinations were also collected. Biomarkers were the activity of the enzymes acetylcholinesterase and cholinesterases, and lipid peroxidation levels. MPs were identified by FT-IR analysis and quantified by polymer type, shape, colour and size. In the Minho River estuary, water and sediment abiotic parameters were also determined. Univariate and multivariate data analyses were used.

The MPs recovered from fish were mainly fibres, and had a diversity of chemical composition, colours and size. MPs were found in fish of all the species, with percentages of fish contamination ranging from 42% to 100% depending on the species. In general, the contamination and the means of MP concentrations were higher in estuarine fish than in fish from Atlantic waters. Among other associations of ecological interest, a relationship between adverse effects in fish (neurological alterations, lipid peroxidation) and fish MP concentrations were found. The results also indicated human exposure to MPs and associated chemicals though the consumption of products from the investigated species. The implications of these findings to 'One Health' are discussed.

Lúcia Maria das Candeias Guilhermino

Lúcia Guilhermino is Full Professor of ICBAS - School of Medicine and Biomedical Sciences of the University of University of Porto (U.Porto), Porto. She holds a PhD in Biology, specialization in Ecology, and Habilitation (Agregação) in Ecology/Planktology. Among other functions at ICBAS, she is member of the "Conselho de Representantes", Director of the Laboratory of Ecotoxicology and Ecology, Coordinator of the PhD Programme in Environmental Contamination and Toxicology of the U.Porto (ICBAS, FCUP, FFUP) and of the Master in Environmental Toxicology and Contamination of the U. Porto (ICBAS, FCUP), coordinator and teacher of several courses, such as Environment and Public Health, Ecotoxicology, Stress Ecology, Environmental Risk Assessment, Veterinary Toxicology, Molecular Toxicology, among others.

L. Guilhermino is also Researcher at the Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR) of the U. of Porto, where she is the Responsible Investigator of the Research Line of Global Changes and Ecosystem Services, of the Research Group "Contamination Pathways and Mechanisms of Toxicity", and of the Research team "Ecotoxicology, Stress Ecology and Environmental Health" (ECOTOX).

Lúcia Maria das Candeias Guilhermino

L. Guilhermino is member of the Working Group of Biological Effects of Contaminants of the International Council for the Exploration of the Sea, member of the Finance Committee and of the Awards Committee of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) – Europe, member of the Boards of Directors of the Iberian Society of Limnology (AIL), Vice-President of the Portuguese Association of Marine Litter, among other national/international functions. She has been evaluator of PhD, MSc and BSc programmes, and projects/grants for international and national (several countries) institutions; Associate Editor/member of the Editorial Board/ reviewer of several scientific international journals, among other evaluations. She was member of the Board of Directors of CIIMAR, member of the Scientific Council of ICBAS, member of the World Council of the SETAC, President of SETAC Europe, President of the Iberoamerican Society of Environmental Contamination and Toxicology (SICTA), Vice-President of AIL, President of the Environment College of the “Ordem dos Biólogos”, among other functions. L. Guilhermino has been coordinator of several research projects, scientific adviser of many post-doc researchers, and supervisor of many PhD, Master, BSc and other students. Her main research topics of interest are on the effects of pollution (e.g. microplastics, nanomaterials, pharmaceuticals, oil spills, pesticides, metals,...) and climate changes on Ocean, Environmental, Animal and Human Health, according to the ‘One Health’ concept. L. Guilhermino published more than 400 publications, including over than 190 articles in scientific journals, and her "h" index (Scopus) is 57.

Comunicações Livres
Comunicações Orais

Comunicaciones Libres
Comunicaciones Orales

JORNADAS IBÉRICAS DE **TOXICOLOGIA**

Núcleo de Estudantes Da Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

4 de junho/junio: 14-15h30 (GMT+1)

CO.01 SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS OF DEOXYNIVALENOL IN CEREAL-BASED PRODUCTS MARKETED IN SPAIN: APPROACH TOWARDS EXPOSURE ASSESSMENT

CO.02 DAÑO RENAL Y ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADOS AL CONSUMO DE TABACO

CO.03 TOTAL OXALATE CONTENT IN THE VEGETABLE INGREDIENTS OF COMMONLY USED GREEN JUICE

CO.04 HOW LOW LEVELS OF THE ANTIBIOTIC CIPROFLOXACIN TRIGGER BIOCHEMICAL AND BEHAVIOURAL CHANGES ON THE POLYCHAETE HEDISTE DIVERSICOLOR

CO.05 THE EUROPEAN HEDGEHOG (ERINACEUS EUROPAEUS) AS A BIOMONITORING TOOL FOR ENVIRONMENTAL XENOBIOTIC CONTAMINATION

CO.06 DRIED SALIVA SPOTS: OPTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UMA TÉCNICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MARCADORES DE TABACO EM FLUIDO ORAL

CO.07 CIPROFLOXACIN DECREASES GLOBLA DNA METHYLATION AND INCREASES HISTONE H3 ACETYLATION ON DIFFERENTIATED SH-SY5Y NEUROBLASTOMA CELLS

CO.08 ANIMAL MODEL OF COLORECTAL CANCER: PRE-NEOPLASTIC LESIONS ASSOCIATED WITH CHEMICAL CARCINOGENESIS INDUCED BY DIMETHYLHYDRAZINE IN WISTAR RATS

CO.09 EMPREGO DE MICROAMOSTRAS DE SANGUE E PLASMA SECO EM PAPEL NO MONITORAMENTO DA CLOZAPINA: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALITICA

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

Núcleo de Estudantes Da Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA

5 de junho/junio: 12-13h (GMT+1)

CO.10 TOXICOMETABOLOMIC INSIGHTS INTO THE MECHANISMS OF HEPATOTOXICITY TRIGGERED BY AMPHETAMINIC DRUGS

CO.11 UTILIZAÇÃO DE LARVAS DE PEIXE ZEBRA COMO MODELO ALTERNATIVO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO MENTOL ENQUANTO COMPOSTO ANESTÉSICO

CO.12 IMUNIZAÇÃO PRÉ-GESTACIONAL COM A VACINA GNE-KLH PROMOVE PROTEÇÃO MATERNO-FETAL À EXPOSIÇÃO À COCAÍNA DURANTE A GESTAÇÃO EM MODELOS PRÉ-CLÍNICOS

CO.13 TRATAMENTO COM N-ACETILCISTEÍNA (NAC) E ANÁLISE TOXICOLÓGICA METIL ETIL CETONA PEROXIDE (MECP): RELATO DE CASO DE UMA INGESTÃO ACIDENTAL

CO.14 PRESENCIA DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES EN LECHE HUMANA EN GUERRERO, MÉXICO

CO.15 REVISIÓN DE LOS CASOS DE INTOXICACIÓN Y ENVENENAMIENTO DE ANIMALES INVESTIGADOS POR EL STVF (MURCIA, ESPAÑA) EN 2020

CO.01- SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS OF DEOXYNIVALENOL IN CEREAL-BASED PRODUCTS MARKETED IN SPAIN: APPROACH TOWARDS EXPOSURE ASSESSMENT

ALFONSO NARVÁEZ 1, YELKO RODRÍGUEZ-CARRASCO 2, LUIGI CASTALDO1 AND ALBERTO RITIENI1
1Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, University of Naples "Federico II", Via Domenico Montesano 49, 80131 Naples, Italy. alfonso.narvaezsimon@unina.it
2Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Av. Vicent Andrés Estellés s/n, Burjassot, València 46100, Spain
3UNESCO Chair on Health Education and Sustainable Development, "Federico II" University, 80131 Naples, Italy

Deoxynivalenol (DON) is a mycotoxin produced by several fungi species from Fusarium genus that mainly occurs in cereals (Rodríguez-Carrasco, et al., 2015). This toxin can develop intestinal lesions, altering cell proliferation and differentiation and interfering with the function of the epithelial barrier (Payros, et al., 2016). Considering its toxicological effects, the European Food Safety Authority (EFSA) set a tolerable daily intake (TDI) value of 1 μg/kg bw/day for the sum of DON and its modified forms that would prevent from adverse effects caused by chronic exposure (EFSA, 2017). In this line, DON has been repeatedly detected in cereal-based products collected from Spanish markets, but it is not possible to have a proper overview of DON impact since each investigation is somehow biased by the number, typology of sample or analytical methodology. Meta-analysis represent an effective approach for combining data reported by individual studies that can be later used for performing robust risk assessments (Rahmani, et al., 2018).

Hence, the aim of this study was to conduct a systematic review and meta-analysis of the concentration and incidence of DON in cereal products from Spanish markets intended for human consumption. Then, an exposure assessment and risk characterization were performed based on consumption data reported by the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition. Systematic literature review was performed within the main databases, including Web of Science, Scopus, PubMed and Embase, using the keywords “deoxynivalenol* AND Spain AND (cereals* OR wheat* OR pasta* OR bread* OR rice* OR corn*)”. Publications in the last 15 years reporting DON in cereal products marketed in Spain (n= 14) were selected for further incidence and concentration meta-analysis. Exposure assessment was based on cereal consumption data alongside mean concentration values extracted from meta-analysis, that was later compared to the TDI value for risk characterization purposes. Results revealed a strong impact of DON in breakfast cereals (pooled concentration = 105.34 ng/g; pooled incidence= 58%) and bread products (pooled concentration= 95.17 ng/g; pooled incidence= 67%). Meta-regression showed a decrease in DON incidence (p-value= 0.761) and concentration (p-value = 0.027) over time. Exposure assessment outlined a high exposure to DON, especially in children below 3 years old that showed a 175% and 119% of the TDI mainly due to baby food intake. Bread products were the main contributor to DON exposure for people above 3 years old, with %TDI values ranging from 12% to 34%. Hence, these results reveal a strong impact of DON within the Spanish population. The surpassing of the TDI raises concern so this study provides more evidence for a reevaluation of maximum limits in foodstuffs alongside further investigation about mitigation strategies for a better management of DON in cereal-based products.

Acknowledgements: This research was funded by the Generalitat Valenciana (Spain) GV/2020/020 (Conselleria d'Innovacio, Universitats, Ciencia i Societat Digital Generalitat Valenciana).

References:

EFSA. (2017). Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed. EFSA Journal, 15(9), e04718.

Payros, D., Alassane-Kpembi, I., Pierron, A., Loiseau, N., Pinton, P., & Oswald, I. P. (2016). Toxicology of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms. Archives of Toxicology, 90(12), 2931-2957.

Rahmani, J., Alipour, S., Miri, A., Fakhri, Y., Riahi, S.-M., Keramati, H., Moradi, M., Amanidaz, N., Pouya, R. H., Bahmani, Z., & Mousavi Khaneghah, A. (2018). The prevalence of aflatoxin M1 in milk of Middle East region: A systematic review, meta-analysis and probabilistic health risk assessment. Food and Chemical Toxicology, 118, 653-666.

Rodríguez-Carrasco, Y., Mañes, J., Berrada, H., & Font, G. (2015). Preliminary Estimation of Deoxynivalenol Excretion through a 24 h Pilot Study. Toxins, 7(3).

CO.02- DAÑO RENAL Y ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADOS AL CONSUMO DE TABACO

JAVIER TASCÓN 1,2,3, ALFREDO G. CASANOVA1,2,3, LAURA VICENTE-VICENTE1,2,3, MOISÉS PESCADOR 1,2,3, MARTA PRIETO1,2,3, ANA I. MORALES1,2,3
1Unidad de Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Salamanca, España. javiertascon_96@usal.es
2Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Hospital Universitario de Salamanca, Universidad de Salamanca, CSIC, Salamanca, España
3Translational Research on Renal and Cardiovascular Diseases (TRECARD), Salamanca, España

El consumo de tabaco está relacionado fundamentalmente con diversos tipos de cáncer, además de con otras patologías del sistema cardiovascular y respiratorio. Aunque recientes investigaciones también relacionan el consumo de tabaco con el desarrollo de daño renal, los marcadores clásicos utilizados en la actualidad, como es el caso de la creatinina plasmática, no son útiles para evidenciar esta lesión renal. En este sentido, se han desarrollado métodos de diagnóstico innovadores, entre los que se encuentran los biomarcadores de daño renal subclínico. De hecho, en estudios clínicos llevados a cabo en nuestro laboratorio se ha comprobado que los pacientes fumadores presentan un daño renal subclínico evidenciado por la excreción de estos biomarcadores urinarios. El objetivo de este trabajo fue dilucidar si el estrés oxidativo está implicado en el daño renal subclínico originado por el consumo de tabaco.

Se realizó un estudio transversal en el que se incluyeron 300 individuos fumadores y no fumadores, sin daño renal previo y sin factores de riesgo de enfermedad renal, procedentes de Atención Primaria de un centro de Salud.

Se les tomaron muestras de orina, en las cuales se determinaron mediante ELISA y técnicas colorimétricas, los biomarcadores de daño renal subclínico (N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG), lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) y la molécula de daño renal 1 (KIM-1)) así como los biomarcadores de estrés oxidativo: malondialdehído (MDA), Vanina-1 y 8-isoprostano. Además, se analizó la Capacidad Antioxidante Total de los pacientes en las muestras de orina.

Los resultados obtenidos evidenciaron una mayor excreción tanto de los biomarcadores de daño renal subclínico, como de los biomarcadores de estrés oxidativo en la orina de los pacientes fumadores con respecto a los no fumadores. Además, se demostró una correlación significativa entre el daño renal y el estrés oxidativo. Por otra parte, la capacidad antioxidante total del organismo fue también mayor en los pacientes fumadores, lo que pudiera ser un mecanismo de defensa frente al daño renal. Nuestros resultados indican que el estrés oxidativo podría jugar un papel relevante en el daño renal subclínico originado por el consumo de tabaco.

Referencias bibliográficas:

Bonventre JV, Vaidya VS, Schmouder R, Feig P, Dieterle F. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. Nat Biotechnol. mayo de 2010;28(5):436-40.

Kim SY, Moon A. Drug-Induced Nephrotoxicity and Its Biomarkers. Biomol Ther (Seoul). mayo de 2012;20(3):268-72.

Rossi W, Garrido G, Nunez Selles A. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research. 29 de marzo de 2016; 4: 62-83.

CO.03- TOTAL OXALATE CONTENT IN THE VEGETABLE INGREDIENTS OF COMMONLY USED GREEN JUICES

MARÍA CONSTANZA LOZANO ÁLVAREZ, MARY TRUJILLO, CAMILO MORA COY,Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Colombia. mclozanoa@unal.edu.co

Objectives: Three green juice recipes were postulated and analyzed by HPLC-UV in order to quantify total oxalate content and thus estimate the risk to which consumers are exposed.

Introduction: Green juices are offered as health promoters by detoxification, weight loss, and immune strengthening (1). The ingredients for its preparation are vegetables that may contain oxalates that could chelate calcium in the diet preventing its absorption or bind to serum calcium producing hypocalcemia and deposition of calcium oxalate crystals in the vasculature and renal tubules. Oxalates are associated with intestinal disorders due to mucosal irritation, neurological and cardiac alterations due to hypocalcemia and nephropathies due to the formation of kidney stones (2). Advanced age or pre-existing kidney conditions may be predisposing factors for oxalate poisoning (3).

Materials and methods: On the internet there were reviewed main components suggested for the preparation of green drinks (1,4). Three formulas were postulated whose ingredients were purchased in three different supermarkets and mixtures were analyzed through HPLC with ion exclusion column and UV detection to quantify total oxalates (5).

Results: The ingredients and their percentage in the recipes were: A: pineapple (53%), cucumber (25%), spinach (17%), flaxseed (3%), ginger (2%); B: celery (45%), kiwi (12%), cucumber (29%), broccoli (10%), parsley (4%) and C: green apple (77%), ginger (8%), lettuce (8 %) and parsley (7%). The range and average of total oxalates (mg / 100g) contained in the recipes was for A: 112.6 - 163.9, 142.7 ± 26.8; for B: 13.91-18.33, 16.5 ± 2.3; and for C: 28.0-39.0, 35.3 ± 6.3.

Discussion: A high consumption of oxalates per serving is considered when are exceed 50 mg (6), a level that is almost 3 times exceeded byA juice. Considering the possibility that two green shakes are consumed per day, with the C and A juice ingestion of oxalates would be 1.4 and 5.7 times higher that recommended per serving. High concentrations of total oxalates are reported in spinach and parsley (970 and 1700 mg / 100g, respectively) (2), components of the juices mentioned. The variability in the oxalate content between the same ingredients, acquired in different places, may be due to the incidence of the region and the climate in which the food was grown (8). A diet rich in oxalates, influenced by the consumption of these apparently healthy beverages, could lead to kidney disorders in people with risk factors, including advanced age and kidney disease (3).

Conclusions: It is important to recognize that according to ingredients green juice consumption could represent risk by vulnerable people which is associated with high oxalate content in some vegetables that are employed preparation of these recipes.

References:

1. Smith, J. 10 Healthy Green Juice Recipes That Actually Taste as Great as They Look. May 28, 2020. URL: https://www.prevention.com/food-nutrition/healthy-eating/g20505685/green-juice-recipes/
2. Haewook, H.; Segal, A.; Seifter, J. L.; Dwyer, J. Nutritional Management of Kidney Stones (Nephrolithiasis). Clin Nutr Res 2015, 4, 137-152.
3. Getting, J.E.; Gregoire, KJ.R.; Phul, A.; Kasten, M.J. Oxalate Nephropathy Due to 'Juicing': Case Report and Review. Am J Med . 2013, 126:768-72.
4. Rada, S. Tomé un batido verde durante una semana y esto fue lo que pasó. Elestimulo.com. URL: https://elestimulo.com/bienmesabe/tome-un-batido-verde-durante-una-semana-y-esto-fue-lo-que-paso/. 2017 (28 May 2021).
5. Moreno, J.; Huertas, A. Robustez de una metodología analítica para determinación de oxalatos. Pregrado en Química Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 2016.
6. Jockers, D. Could You Benefit from a Low Oxalate Diet? URL: https://drjockers.com/low-oxalate-diet/. (20 May 2021).
7. Santacoloma-Varón, L.E. Evaluación del contenido de metabolitos secundarios en dos especies de plantas forrajeras encontradas en dos pisos térmicos de Colombia. RIIA 2010, 1:31-35.

CO.04- DISTRIBUCIÓN Y EFECTOS DE NANOPLÁSTICOS EN EMBRIONES DE PEZ CEBRA Y CÉLULAS NEURONALES

MÓNICA TORRES-RUIZ, MARIA DEL CARMEN GONZÁLEZ CABALLERO, MERCEDES DE ALBA GONZÁLEZ, MARÍA GALLEGO RODRÍGUEZ, CARLA GARCÍA LÓPEZ, ANA ISABEL CAÑAS PORTILLA

Área de Toxicología Ambiental, Centro Nacional de Sanidad Ambiental, Instituto de Salud Carlos III. mtorres@isciii.es

La producción mundial de plástico ha aumentado exponencialmente en las últimas décadas y una proporción significativa persiste en el medio ambiente, donde es degradado por procesos mecánicos y físicos dando lugar a los micro (< 5mm) y nanoplásticos (< 1000 nm; NP) [1,2,3]. La exposición humana a estos NP se produce por ingestión, inhalación y vía cutánea. Entre los efectos en la salud que pueden provocar los NP [4], la toxicidad en el neurodesarrollo es uno de los más preocupantes puesto que podrían ser capaces de atravesar la barrera hematoencefálica [5]. Con el objetivo de profundizar en estos efectos, se han seleccionado dos modelos de ensayo complementarios: embriones de pez cebra (D. rerio) y una línea clonal de células madre neurales (hNS1) [6, 7,8], en los que, además, se evaluaron efectos cardiotóxicos y en el desarrollo.

Ambos modelos fueron expuestos a NP de poliestireno de 30 nm y marcaje fluorescente a concentraciones de 0,2 mg/L - 10 mg/L. Los embriones fueron expuestos desde 1 hora post fertilización (hpf) hasta 120 hpf. Las células fueron tratadas a 16h, 24h, 48h y 4 días.

A todas las concentraciones testadas los NP fueron capaces de entrar en las células, observándoseles en el citoplasma, pero no en el núcleo celular. A medida que se incrementó la concentración, las partículas formaron agregados de mayor tamaño en el interior del citoplasma y lo mismo ocurrió al aumentar el tiempo de exposición.

Además, se detectaron cambios en la morfología celular, aunque no se observó un efecto claro sobre la muerte celular en estas condiciones experimentales. En embriones, se observaron efectos sobre el neurodesarrollo, más significativos a las 120 hpf. Se evidencia una mayor respuesta al estrés (luz) con una disminución del movimiento (velocidad y distancia recorrida) en larvas tratadas con 0,2 mg/L y 1 mg/L NP, frente a hiperactividad en periodos de oscuridad. Además, se observa una disminución de la thigmotaxis en embriones tratados a 5 mg/L. Los NP tuvieron efecto sobre la mortalidad de los embriones únicamente a 5 mg/L, con una mortalidad del 50%, observándose también a esta dosis efectos cardiotóxicos como disminución del ritmo cardíaco y efectos teratogénicos (lordosis, disminución tamaño corporal y ocular). La observación al microscopio reveló una acumulación de NP creciente a mayor concentración y localizada principalmente en la yema, el intestino, los ojos y el cerebro. Se observó también circulación de los NP en venas y arterias.

En conclusión, los NP de poliestireno de 30 nm son capaces de penetrar en el embrión del pez cebra y acumularse en sus órganos, incluido el cerebro. Además, son capaces de internalizarse in vitro en hNSC a diferentes tiempos de exposición acumulándose en el citoplasma. Esta acumulación se traduce en efectos neurotóxicos, cardiotóxicos y teratogénicos.

Referencias bibliográficas:

1. Letcher, T. M., Plastic Waste and Recycling: Environmental Impact, Societal Issues, Prevention, and Solutions. Academic Press: 2020.
2. Andrady, A. L., The plastic in microplastics: A review. Marine pollution bulletin 2017, 119, (1), 12-22.
3. Gigault, J.; Ter Halle, A.; Baudrimont, M.; Pascal, P.-Y.; Gauffre, F.; Phi, T.-L.; El Hadri, H.; Grassl, B.; Reynaud, S., Current opinion: What is a nanoplastic? Environmental pollution 2018, 235, 1030-1034.
4. Lehner, R.; Weder, C.; Petri-Fink, A.; Rothen-Rutishauser, B., Emergence of nanoplastic in the environment and possible impact on human health. Environmental science & technology 2019, 53, (4), 1748-1765.
5. Prüst, M., Meijer, J., & Westerink, R. H. The plastic brain: neurotoxicity of micro-and nanoplastics. Particle and fibre toxicology 2020, 17, 1-16.
6. Liste I, García-García E, Martínez-Serrano A. The generation of dopaminergic neurons by human neural stem cells is enhanced by Bcl-XL, both in vitro and in vivo. Journal of Neuroscience 2004, 24, 10786–10795.
7. Villa A, Snyder EY, Vescovi A, Martínez-Serrano A. Establishment and proper- ties of a growth factor-dependent, perpetual neural stem cell line from the human CNS. Experimental Neurology 2000, 161, 67–84.
8. Villa A, Navarro-Galve B, Bueno C, Franco S, Blasco MA, Martinez-Serrano A.. Long-term molecular and cellular stability of human neural stem cell lines. Experimental Cell Research 2004, 294 (2), 559–570.

CO.05- THE EUROPEAN HEDGEHOG (ERINACEUS EUROPAEUS) AS A BIOMONITORING TOOL FOR ENVIRONMENTAL XENOBIOTIC CONTAMINATION

Catarina Jota Baptista1,2, Fernanda Seixas1,3, José M Gonzalo-Orden4, Paula A. Oliveira1,2
1Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. catabap@hotmail.com
2Centre for Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), Inov4Agro, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal
3Veterinary and Animal Research Center (CECAV), AL4Animals, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal
4Institute of Biomedicine (IBIOMED), University of León, León, Spain

Aims: This review aims to highlight the importance of considering Erinaceus europaeus, an abundant micromammal of Iberian fauna, as an essential tool for biomonitoring xenobiotics.

Introduction: E. europaeus is endemic to continental Europe (1), present in the Iberian peninsula, mainly insectivore and adaptable to different habitats, from natural to urban areas (2).
Despite the determination of xenobiotics in the environment (e.g. water or soil), measuring their concentrations in different organs from wild species gives an in vivo perspective of this problem. Besides the amount that the animal has been exposed to, it is possible to predict the subsequent organic lesions and eventually develop exposure mitigation strategies (3–6). Hair and spines can be used to evaluate exposure, while blood and internal organs may reveal information on its distribution, accumulation and induced damages (7–10).

Methods: Scopus® search tool was used with the keywords: european; hedgehog; erinaceus; europaeus pollution; xenobiotic; contamination; rodenticide; heavy metal; organic.

Results: Overall, carnivorous and insectivorous (as hedgehogs) tend to show more pollutant residues and more expressive clinical signs than herbivorous, due to bioaccumulation effects between trophic levels (11). That's why hedgehogs tend to have, for instance, higher levels of Pb than omnivorous or herbivorous species (12). Furthermore, they can occupy areas with a high level of urbanisation, where this compound is more commonly present (11). However, in unpolluted areas, the amount of trace elements is generally lower and linked with the individual age, directly related to exposure time (13). Moreover, positive correlations were already identified between hair, blood and spines, for As, Cd and Pb (10).

Comparing to other mammals, hedgehogs may accumulate considerable concentrations of organochlorine compounds, and hair and spines usually show high levels of these substances (14–17).

In Britain, 66.7% of the analysed hedgehogs were positive of at least one anticoagulant rodenticide. Reasons for this result include an unintentional misuse of rodenticides in urban areas, leading to an exposure to sub-lethal levels (18). Another study, performed in South Spain, reported an exceptionally high level of bromadiolone in hedgehogs, comparing to birds of prey, perhaps due to their movement on the soil, which leads to easier access to baiting stations (19).

Conclusions: E. europaeus can be an opportunity to understand the consequences of the presence of toxic compounds in the ecosystem, which represents a public and environmental health concern. Due to some biological characteristics and almost global distribution, E. europeaus exemplifies a suitable mammalian candidate for more ecotoxicology studies, namely in the Iberian peninsula.

Acknowledgements: This work is supported by National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UIDB/04033/2020. Moreover, this work was also supported by the project UIDB/CVT/00772/2020, also funded by the FCT.

References:

1. Amori G. Erinaceus europaeus. IUCN Red List Threat Species. 2016;5–7.
2. Haigh A, Butler F, O'Riordan RM. Intra- and interhabitat differences in hedgehog distribution and potential prey availability. Mammalia. 2012;76(3):261–8.
3. Brodkin E, Copes R, Mattman A, Kennedy J, Kling R, Yassi A. Lead and mercury exposures: Interpretation and action [Internet]. Vol. 176, CMAJ. Canadian Medical Association; 2007 [cited 2021 Feb 8]. p. 59–63. Available from: /pmc/articles/PMC1764574/?report=abstract
4. Walker LA, Simpson VR, Rockett L, Wienburg CL, Shore RF. Heavy metal contamination in bats in Britain. Environ Pollut. 2007 Jul 1;148(2):483–90.
5. Kalisińska E, Salicki W, Mysłek P, Kavetska KM, Jackowski A. Using the Mallard to biomonitor heavy metal contamination of wetlands in north-western Poland. Sci Total Environ. 2004 Mar 29;320(2–3):145–61.
6. Ali H, Khan E. Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs—Concepts and implications for wildlife and human health [Internet]. Vol. 25, Human and Ecological Risk Assessment. Taylor and Francis Inc.; 2019 [cited 2021 Jan 22]. p. 1353–76. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10807039.2018.1469398

7. D'Havé H, Scheirs J, Covaci A, van den Brink NW, Verhagen R, De Coen W. Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (Erinaceus europaeus): IV. Hair versus soil analysis in exposure and risk assessment of organochlorine compounds. Environ Pollut. 2007;145(3):861–8.
8. D'Havé H, Scheirs J, Mubiana VK, Verhagen R, Blust R, De Coen W. Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (Erinaceus europaeus): II. Hair and spines as indicators of endogenous metal and As concentrations. Environ Pollut [Internet]. 2006 Aug [cited 2021 Mar 29];142(3):438–48. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749105005361
9. D'Havé H, Scheirs J, Mubiana VK, Verhagen R, Blust R, De Coen W. Nondestructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (Erinaceus europaeus): I. Relationships between concentrations of metals and arsenic in hair, spines, and soil. Environ Toxicol Chem. 2005;24(9):2356–64.
10. Vermeulen F, D'Havé H, Mubiana VK, Van den Brink NW, Blust R, Bervoets L, et al. Relevance of hair and spines of the European hedgehog (Erinaceus europaeus) as biomonitoring tissues for arsenic and metals in relation to blood. Sci Total Environ. 2009 Feb 15;407(5):1775–83.
11. Alleva E, Francia N, Pandolfi M, De Marinis AM, Chiarotti F, Santucci D. Organochlorine and heavy-metal contaminants in wild mammals and birds of Urbino-Pesaro Province, Italy: An analytic overview for potential bioindicators [Internet]. Vol. 51, Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2006 [cited 2021 Mar 29]. p. 123–34. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00244-005-0218-1
12. Reinecke AJ, Reinecke SA, Musilbono DE, Chapman A. The transfer of lead (Pb) from earthworms to shrews (Myosorex varius). Arch Environ Contam Toxicol [Internet]. 2000 [cited 2021 Apr 23];39(3):392–7. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s002440010120

13. Rautio A, Kunnasranta M, Valtonen A, Ikonen M, Hyvärinen H, Holopainen IJ, et al. Sex, age, and tissue specific accumulation of eight metals, arsenic, and selenium in the European Hedgehog (Erinaceus europaeus). Arch Environ Contam Toxicol [Internet]. 2010 Nov 7 [cited 2021 Mar 29];59(4):642–51. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00244-010-9503-8
14. D'Havé H, Scheirs J, Mubiana VK, Verhagen R, Blust R, De Coen W. Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (Erinaceus europaeus): II. Hair and spines as indicators of endogenous metal and As concentrations. Environ Pollut. 2006;142(3):438–48.
15. Chu S, Covaci A, Voorspoels S, Schepens P. The distribution of octachlorostyrene (OCS) in environmental samples from Europe. J Environ Monit. 2003;5(4):619–25.
16. Vermeulen F, Covaci A, D'Havé H, Van den Brink NW, Blust R, De Coen W, et al. Accumulation of background levels of persistent organochlorine and organobromine pollutants through the soil-earthworm-hedgehog food chain. Environ Int. 2010;36(7):721–7.
17. Vermeulen F, Van den Brink NW, D'Havé H, Mubiana VK, Blust R, Bervoets L, et al. Habitat type-based bioaccumulation and risk assessment of metal and As contamination in earthworms, beetles and woodlice. Environ Pollut. 2009;157(11):3098–105.
18. Dowding CV, Shore RF, Worgan A, Baker PJ, Harris S. Accumulation of anticoagulant rodenticides in a non-target insectivore, the European hedgehog (Erinaceus europaeus). Environ Pollut. 2010;158(1):161–6.
19. López-Perea JJ, Camarero PR, Molina-López RA, Parpal L, Obón E, Solá J, et al. Interspecific and geographical differences in anticoagulant rodenticide residues of predatory wildlife from the Mediterranean region of Spain. Sci Total Environ. 2015 Apr 1;511:259–67.

CO.06- DRIED SALIVA SPOTS: OPTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UMA TÉCNICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MARCADORES DE TABACO EM FLUIDO ORAL

H. Marques[1,2], T. Rosado[1,2,3], A. Y. Simão[1,2], L. Passarinha[1,2,4], E. Gallardo[1,2]

1Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS-UBI), Universidade da Beira Interior, 6200-506 Covilhã, Portugal. hefm976@gmail.com

2Laboratório de Fármaco-Toxicologia, UBIMedical, Universidade da Beira Interior, 6200-284 Covilhã, Portugal

3C4 - Cloud Computing Competence Centre, Universidade da Beira Interior, 6200-284 Covilhã, Portugal

4UCIBIO, Applied Molecular Biosciences Unit, Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

Objetivos: Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um método miniaturizado com recurso a Dried Saliva Spots (DSS) para a determinação de marcadores de consumo de tabaco em fluido oral. O presente método permitirá a distinção entre exposição passiva ou ativa ao fumo de tabaco.

Introdução: O fumo de tabaco causa danos ao organismo humano em todos os indivíduos que a ele se encontram expostos, não sendo possível definir atualmente um nível de segurança para a exposição ao conjunto de substâncias presentes (1). Segundo dados de 2017, existem mais de 1,1 mil milhões de fumadores, sendo que o fumo do tabaco é responsável por 8 milhões de mortes anualmente, das quais 7 milhões estão relacionadas com o tabagismo ativo e as restantes com a exposição passiva (2,3). Esta exposição, seja de forma ativa ou passiva, potencia o aparecimento de algumas doenças, podendo estas ser divididas em dois grupos: carcinogénicas e não carcinogénicas (1).

Metodologia: Realizou-se a otimização do processo de extração com DSS e a validação do método analítico que permitiu a determinação de nicotina, cotinina e trans-3-hidroxicotinina em fluido oral com recurso à cromatografia gasosa acoplada a espetrometria de massa em tandem (GC-MS/MS). Os fatores que influenciam o processo de extração (tempo de secagem, solvente de extração, volume de solvente, e tempo de extração) foram otimizados de forma a maximizar as recuperações dos analitos alvo e diminuir os limites de quantificação (LOQ). O processo de validação seguiu as diretrizes definidas pelo Scientific Working Group of Forensic Toxicology (SWGTOX) que englobam a avaliação da linearidade, LOQ, exatidão e precisão, estabilidade, recuperações e fator de diluição.

Resultados: Durante a otimização do método desenvolvido definiram-se como condições ótimas: tempo de secagem dos spots: 1 hora; tempo de extração: 5 minutos; e um 1 mL de volume de metanol (pH 5) como solvente de extração. O método demonstrou ser linear no intervalo de concentrações de 10-200 ng/mL, com coeficientes de determinação superior a 0,99 (n=5). A precisão e exatidão inter-dia, intra-dia e intermediária revelaram-se satisfatórias com coeficiente de variação (CV) e erro relativo (RE) tipicamente inferiores a 15% (20% no caso do LOQ). As recuperações obtidas foram avaliadas a três níveis de concentração situando-se entre os 29,2% e os 92,8%. O método proposto foi aplicado a amostras reais procedentes de fumadores ativos e passivos.

Conclusões: Esta é a primeira metodologia que usa DSS para a determinação de marcadores de tabaco em amostras de fluido oral com recurso a GC-MS/MS. O método revelou-se vantajoso devido o seu baixo custo por análise, simplicidade e possível adaptação à rotina laboratorial. O método proposto permite fazer a distinção entre consumidores passivos e ativos, sendo um método sensível, alcançando os cutoff preconizados, e com utilidade para baixos volumes de amostra de fluido oral (100 µL).

Agradecimentos: Este trabalho tem o apoio dos fundos FEDER através de POCI—COMPETE 2020—Operational Programme Competitiveness and Internationalisation in Axis I—Strengthening research, technological development and innovation (Project POCI-01-0145-FEDER-007491) e da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projecto UID/Multi/00709/2020 (CICS); UIDB/04378/2020 (UCIBIO)). A. Simão agradece ao Programa Santander-Totta Universidades pela bolsa com referência BID/UBI-Santander Universidades/2019. T. Rosado agradece ao Centro de Competências em Cloud Computing, através da bolsa de investigação (C4_WP2.6_M1—Bioinformatics; Operação UBIMEDICAL—CENTRO-01-0145-FEDER-000019—C4—Centro de Competências em Cloud Computing, Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

Referências:

1. Narkowicz S, Polkowska Z, Kiełbratowska B, Namieśnik J. Environmental tobacco smoke: Exposure, health effects, and analysis. Crit Rev Environ Sci Technol. 2013;43(2):121–61.

2. Flor LS, Reitsma MB, Gupta V, Ng M, Gakidou E. The effects of tobacco control policies on global smoking prevalence. Nat Med [Internet]. 2021;27(February). Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-01210-8

3. Marques H, Cruz-Vicente P, Rosado T, Barroso M, Passarinha LA, Gallardo E. Recent Developments in the Determination of Biomarkers of Tobacco Smoke Exposure in Biological Specimens: A Review. Int J Environ Res Public Health. 2021;18(4):1768.

CO.07- CIPROFLOXACIN DECREASES GLOBAL DNA METHYLATION AND INCREASES HISTONE H3 ACETYLATION ON DIFFERENTIATED SH-SY5Y NEUROBLASTOMA CELLS

CSandra Marques, Helena Carmo, Félix Carvalho, João Pedro Silva
UCIBIO, REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Portugal. marques.sandra075@gmail.com

Objectives: Assessment of the potential of ciprofloxacin to promote global epigenetic changes in a neuronal cell model, while simultaneously evaluating its neurotoxicity.

Introduction: Several pharmaceuticals originate mood and cognitive adverse events (MCAEs) that are only detected at later stages of clinical trials (e.g. Phase III or later) or during post-marketing surveillance, posing major safety concerns. Ciprofloxacin (an antibiotic of the fluoroquinolone class) has been frequently reported to originate MCAEs [1]. However, the molecular mechanisms triggering such MCAEs remain unclear, hindering their early detection. Despite the accumulating evidence that epigenetic changes may affect mood and cognition ciprofloxacin's epigenetic impact on neuronal cells remains unexplored.

Methods: SH-SY5Y neuroblastoma cells, differentiated into a dopaminergic phenotype with 10nM retinoic acid (RA), for 72h, and 10nM RA + 80nM 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate for another 72h, were exposed to ciprofloxacin at 0.1, 1, and 10μM for 24 and 48h. Metabolic activity was assessed by the MTT reduction assay. Intracellular calcium levels were quantified using Fluo-4 AM labeling. Global DNA methylation (% 5-methylcytosine) and histone H3 acetylation were determined using colorimetric and fluorometric, commercially available kits (Abcam), respectively.

Results: Metabolic activity of SH-SY5Y cells was not significantly altered in the presence of ciprofloxacin tested up to 10µM, and 48h exposure. Similarly, intracellular calcium concentration was not significantly affected at any of the tested exposure settings. Ciprofloxacin decreased DNA methylation levels at 0.1 and 1 µM, compared to the vehicle control, after 48h of exposure. However, this parameter was not significantly changed at 24h. Moreover, exposure to ciprofloxacin at 0.1 and 1 µM, and 1 µM, at 24h and 48h, respectively, resulted in higher histone H3 acetylation levels, compared to the vehicle control.

Conclusion: Altogether, these results suggest that ciprofloxacin has the potential to induce global epigenetic modifications, namely DNA methylation and histone acetylation, at non-cytotoxic concentrations. However, further research is required to understand how these epigenetic changes may impact neuronal activity and cause MCAEs.

Acknowledgements:
This work was funded by the Innovative Medicines Initiative 2 Joint Undertaking (IMI2-JU) under grant agreement No 821528 (NeuroDeRisk). IMI2-JU is supported by the H2020 Programme and the European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations. SM is supported by the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) via PhD grant 2020.09080.BD.

References:
1. Silva et al. Arch Toxicol 2020 94:2829-45.

CO.08- ANIMAL MODEL OF COLORECTAL CANCER: PRE-NEOPLASTIC LESIONS ASSOCIATED WITH CHEMICAL CARCINOGENESIS INDUCED BY DIMETHYLHYDRAZINE IN WISTAR RATS

Rita Silva-Reis1, Catarina Castro Ribeiro1, Mariana Gonçalves1, Tiago Ferreira1, Maria João Pires1,2, Elisabete Nascimento-Gonçalves1, Alexandra Moreira-Pais4,5, Adelina Gama2,3, Rita Ferreira4, Paula A. Oliveira1,2

1CITAB, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. ritareis96@hotmail.com

2Department of Veterinary Sciences, UTAD, Vila Real, Portugal

3CECAV, UTAD, Vila Real, Portugal

4REQUIMTE, Department of Chemistry, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

5CIAFEL, Faculty of Sports, University of Porto, Porto, Portugal

Aims: This work aimed to determine the spectrum of colorectal lesions induced by 1,2-Dimethylhydrazine (DMH), to evaluate the cell proliferation rate, and to analyze inflammatory serum markers.

Introduction: Colorectal cancer (CRC) is one of the most common gastrointestinal malignancies. Animal models allow us to understand several aspects of this disease.

Methods: Twenty-nine male Wistar rats were divided into two control groups (CTRL1 and 2), administrated with EDTA-saline, and two induced groups (IND1 and 2), administrated 1,2-Dimethylhydrazine (40mg/kg) for seven weeks. The IND1 and CTRL1 groups, and the IND2 and CTRL2 groups were sacrificed at weeks 11 and 17 after the first administration, respectively. A full necropsy was performed, and colon samples were collected and stained with 0.2% methylene blue to detect aberrant crypt foci (ACF) formation.

Sections of paraffin-embedded samples were processed for histopathological analysis and to evaluate Ki-67 expression by immunohistochemistry. Blood samples were collected to analyze serum markers of inflammation (C-reactive protein (CRP) and Interleukin-6(IL-6)). All ethical issues were followed by the guidelines of the Portuguese Direção Geral de Alimentação e Veterinária (approval number: 010535).

Results: ACF were easily visualized, being slightly elevated lesions above the surrounding mucosa and usually demonstrating characteristic oval or slit-like orifices. The mean number of ACF induced in the IND1 group was 24.00±4.06 per animal, as compared to 24.83±5.33 in the IND2 group. Half of the animals belonging to the IND1 group presented mild to moderate dysplasia foci (n=3) in the colon. The incidence of neoplasia was only 16.7% (n=1) in the IND2 group. In this group, one animal also exhibited severe dysplasia and two presented mild to moderate dysplasia foci. The presence of inflammatory lesions in colon samples was frequently found in animals from IND groups compared to CTRL groups. Although the presence of local inflammation in the colon of the induced animals is notorious, there was no evidence of systemic inflammation in these animals and the circulating levels of CRP and IL-6 were higher in the CTRL groups.

Conclusion: In conclusion, DMH predominantly induced pre-neoplastic lesions at the colon level and there was no evidence of systemic inflammation, which suggests the disease was at an early stage. Thus, our model represents a useful approach for the study of CRC chemoprevention.

CO.09- EMPREGO DE MICROAMOSTRAS DE SANGUE E PLASMA SECO EM PAPEL NO MONITORAMENTO DA CLOZAPINA: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

Eliana Carniel, Karen Adam, Rafael Linden, Marina Venzon Antunes
Universidade de Feevale, Novo Hamburgo, Brasil. elianacarniel@gmail.com

Objetivo: Desenvolver e validar metodologias no monitoramento terapêutico da clozapina em microamostras secas por cromatografia líquida associada a espectrometria de massas em sequencial (LC-MS/MS).

Introdução: O tratamento adequado e o monitoramento à terapia de pacientes esquizofrénicos garantem a adesão e evitam efeitos colaterais decorrentes das medicações indicadas (PATEL et al, 2005). A clozapina é um antipsicótico atípico muito utilizado em pacientes esquizofrênicos resistentes (GARCÍA et al, 2017; NIELSEN et al, 2012). A coleta de amostras secas, como mancha de sangue seco (MSS) e mancha de plasma seco (MPS) permitem coletas de sangue capilar, com facilidade no transporte e podendo ser realizado pelo próprio paciente em momento farmacocineticamente apropriado.

Metodologia: Foram preparados calibradores em MSS e MPS entre e 1500 ng/mL. Um disco de 6mm de amostra foi extraído com uma solução de metanol: MTBE (1:9), secos por 30 min a 60ºC, o extrato seco com fase móvel e após injetado em LC-MS/MS Dionex Ultimate 3000 TSQ Quantum Access Max da Thermo Scientific, com coluna Hypersil GOLD fenil (100 x 2,1 mm; 3 µm) a 40 °C. As fases móveis foram A: formiato de amônio 1 mM, pH 4 e B: metanol, eluídas a 0,4 mL min-1 no gradiente 30% B até até 70% B aos 4 min, mantido por 2,5 min, retornando a 30% B em 7 min, com corrida de 9 minutos. A ionização modo positivo em fonte APCI, gás nebulizador e gás auxiliar de nitrogênio, gás de colisão argônio, temperatura de vaporizador 370 °C e temperatura de capilar 200 °C.

Resultados: Os resultados obtidos na validação foram satisfatórios, com curvas lineares para ajuste ponderal 1/x (r>0,99). Para ambas as matrizes, a exatidão foi de 90,9 a 104,6% para a clozapina (CLZ), e 92,7 a 102,9% para norclozapina (NOR). As precisões intra e inter-ensaios da clozapina foram de 4,66 a 11,36% e 4,47 a 10,35%, respectivamente. O efeito matriz compensado pelo padrão interno foi de 0,89 a 5,74% para clozapina e de -0,05 a 3,51% para norclozapina em ambas as matrizes. O rendimento médio da extração foi de 63 a 67% para CLZ e 58 a 69% para NOR e não foi evidenciado impacto do HCT. As amostras são estáveis por 25 dias nas diferentes temperaturas testadas, para as duas matrizes.

Conclusões: Os métodos desenvolvidos neste estudo se mostraram satisfatórios para a determinação de clozapina e norclozapina em amostras secas para análise em LC–MS/MS. Esta técnica se mostrou sensível, com preparação e extração simples dos analitos, mesmo em baixos volumes e concentrações de amostra.

Referências:

GARCÍA, Celso Iglesias; ALONSO, Ana Iglesias; BOBES, Julio. Concentrations in plasma clozapine levels in schizophrenic ans schizzoafective patients. Revista de Psiquiatría y Salud Mental, Barcelona, v. 10, n. 4, p. 192-196, 2017.

NIELSEN, J., et al. Geographical and temporal variations in clozapine prescription for schizophrenia. European Neuropsychopharmacology, v. 22, p. 818-824, 2012.

PATEL, K. R. et al. Schizophrenia: Overview and Treatment Options. P&T. V. 39, N. 9. 2014.

PATEL, N. C. et al. Drug Adherence: Effects of Decreased Visit Frequency on Adherence to Clozapine Therapy. Pharmacotherapy. V. 25, n.9, p. 1242–1247, 2005.

CO.10- TOXICOMETABOLOMIC INSIGHTS INTO THE MECHANISMS OF HEPATOTOXICITY TRIGGERED BY AMPHETAMINIC DRUGS

Ana Margarida Araújo1, Márcia Carvalho1,2,3, Eduarda Fernandes4, Maria de Lourdes Bastos1, Félix Carvalho1, Paula Guedes de Pinho1
1UCIBIO, REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313, Porto, Portugal. ana.margarida.c.araujo@gmail.com
2FP-ENAS, Fernando Pessoa Energy, Environment and Health Research Unit, University Fernando Pessoa, Praça Nove de Abril, 349, 4249-004, Porto, Portugal
3Faculty of Health Sciences, University Fernando Pessoa, Rua Carlos da Maia, 296, 4200-150, Porto, Portugal
4UCIBIO, REQUIMTE, Laboratory of Applied Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313, Porto, Portugal

Hepatic injury following the recreational use of amphetamine-like drugs has been extensively reported, but the mechanisms underlying liver damage caused by concentrations representative of common use or intoxication scenarios have not been fully elucidated. Therefore, in this work, we used a sensitive untargeted metabolomic approach, based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), to identify the early adverse events caused by human relevant concentrations of amphetamine-like drugs. Intracellular metabolome analysis was performed on primary mouse hepatocytes exposed for 24h to two subtoxic concentrations of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV) or methylone (corresponding to LC01 and LC10, as evaluated by the MTT assay). In order to establish the value of metabolomics to reveal toxicological pathways, traditional toxicological endpoints (i.e. MTT and LDH cell viability, GSH and ATP assays) were also evaluated.

The results obtained by the multivariate analysis showed that all tested amphetaminic derivatives significantly affected the intracellular metabolome of primary hepatic cells, even at concentrations that caused a minimal decrease in cell viability. Most of the altered metabolites belong to the class of amino acids, fatty acids, carbohydrates and carboxylic acids. Although each drug revealed a characteristic metabolic signature, changes in many metabolic pathways were found to be common to all drugs tested, suggesting that these three compounds share, at least in part, the same mechanisms of toxicity. Briefly, the studied amphetaminic derivatives induce significant alterations in energy metabolism, antioxidant defenses, amino acids metabolism and pentose phosphate pathway. The combination of metabolites and their respective levels was unique for each tested drug, being therefore useful in understanding their specific toxicological outcome. Most importantly, our data provide compelling evidence that metabolomics is a suitable and more sensitive approach when compared to conventional toxicological assays, as significant alterations in metabolite levels were already found at the lowest concentration tested. To the best of our knowledge, this is the first study highlighting the potential of the intracellular metabolome analysis to assess the early adverse events of drugs of abuse, providing new insights into their mechanisms of toxicity.

Acknowledgements

A.M.A. thanks Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) for her PhD fellowship (SFRH/BD/107708/2015). This work was supported by the Applied Molecular Biosciences Unit - UCIBIO which is financed by national funds from FCT (UIDP/04378/2020 and UIDB/04378/2020).

CO.11- UTILIZAÇÃO DE LARVAS DE PEIXE ZEBRA COMO MODELO ALTERNATIVO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO MENTOL ENQUANTO COMPOSTO ANESTÉSICO

R. Vieira1, D. Silva2, C. Venâncio1,3, L. Félix1,4
1Centro para Investigação Agroambientais e Tecnologias Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal. raquelvieira1920@gmail.com
2Escola das Ciências da Vida e do Ambiente, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal
3Departamento de Zootecnia, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal
4Laboratory Animal Science (LAS), Institute of Health Research and Innovation (i3S), University of Porto (UP), Porto, Portugal

Objetivo: O objetivo deste estudo foi utilizar larvas de peixe zebra como modelo alternativo para avaliação de compostos anestésicos, avaliando o perfil anestésico do mentol comparativamente ao MS-222, assim como os seus efeitos a nível bioquímico.

Introdução: A avaliação de efeitos da anestesia requer modelos de teste alternativos de acordo com a política dos 3Rs. Uma alternativa que tem vindo a ser cada vez mais utilizada são os estados iniciais de desenvolvimento embrionário do peixe-zebra. Às 72 horas pós fertilização (hpf), este modelo tem a maioria dos recetores cerebrais funcionais e a estrutura do cérebro desenvolvida respondendo a estímulos de toque e visuais. Além disso, a maioria dos mecanismos bioquímicos estão presentes validando o seu uso na avaliação de novos anestésicos como é o caso do mentol. Este é um composto natural com propriedades anestésicas comprovadas em diferentes espécies aquáticas, mas sobre o qual existe pouca informação em modelos de investigação como é o caso do peixe-zebra.

Metodologia: As concentrações de mentol usadas (25 - 600 mg L-1) foram determinadas utilizando animais com 72 hpf. A indução anestésica foi avaliada pela perda de equilíbrio, falha na capacidade de nado e não resposta a estímulos táteis na cauda, e o tempo de recuperação foi avaliado em E3 pelo recuperar do equilíbrio e capacidade de nado. As larvas anestesiadas e recuperadas foram recolhidas e avaliados diferentes parâmetros relacionados com o stresse oxidativo (atividade da SOD, CAT, GPx e o índice OSI), peroxidação lipídica (LPO) e quantificação de espécies reativas de oxigénio (ROS), ATPase, a atividade da acetilcolinesterase (AChE) e lactato desidrogenase (LDH) por fluorescência e espectrofotometria de absorvência.

Resultados: O tempo de indução do mentol a 500 mg L-1 foi muito similar ao do MS-222 a 200 mg L-1, concentração usualmente utilizada em investigação e aquacultura. Contudo, o tempo de recuperação do mentol foi mais longo do que o do MS-222. Não foram detetadas alterações na função cardíaca às 24 e 48h após anestesia. A nível bioquímico, a atividade da LDH apresentou um decréscimo na concentração mais alta em relação com MS-222. Depois de recuperados os animais apresentaram um decréscimo na atividade de ATPase nas concentrações de 400 e 500 mg L-1 em relação ao MS-222.

Conclusões: Percebeu-se que este modelo responde ao efeito anestésico do MS-222 e do mentol. O mentol é efetivo enquanto anestésico e apresenta um perfil similar ao MS-222. Concentrações anestésicas elevadas de mentol podem comprometer alguns parâmetros bioquímicos. Contudo, mais estudos a nível bioquímico e comportamental são precisos para comprovar estes dados e concluir quanto à segurança do composto.

Agradecimentos: À FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia, I.P., (SFRH/BD/144904/2019) e FSE- Fundo Europeu Social, NORTE 2020- Programa Operacional da Região Norte para bolsa de PhD R. Vieira e Projetos UIDB/04033/2020 e POCI-01-0145- FEDER-029542 (PTDC/CVT-CVT/29542/2017).

CO.12- IMUNIZAÇÃO PRÉ-GESTACIONAL COM A VACINA GNE-KLH PROMOVE PROTEÇÃO MATERNO-FETAL À EXPOSIÇÃO À COCAÍNA DURANTE A GESTAÇÃO EM MODELOS PRÉ-CLÍNICOS

Paulo Sérgio de Almeida Augusto1, Raíssa Lima Gonçalves Pereira1, Sordani Maria Caligiorne1, Larissa Pires do Espírito Santo1, Karine Dias dos Reis1, Brian Sabato1, Bruna Rodrigues Dias Assis2, Leonardo da Silva Neto3, Maila de Castro Lourenço das Neves1, Gisele Assis Castro Goulart2, ngelo de Fátima4, Frederico Duarte Garcia1
1Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. paulo.saugusto7@gmail.com
2Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil
3Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Farroupilha, Alegrete, Rio Grande do Sul, Brasil
4Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

Objetivos: Avaliar se a imunoterapia com GNE-KLH pode fornecer proteção materno-fetal contra desfechos negativos associados à exposição à cocaína na gestação.

Introdução: O uso de cocaína é um problema de saúde pública mundial (BUTLER et al., 2017). A exposição à cocaína ou crack durante a gestação induz efeitos negativos nas mães e na prole a curto e longo prazo, tais como: menor ganho de peso durante a gestação, parto prematuro, morte materna e fetal e dificuldades no desenvolvimento cognitivo e neurológico tanto em modelos experimentais quanto em estudos observacionais em humanos (McMURRAY et al., 2013; Dos SANTOS et al., 2018). Não existem ainda fármacos aprovados para o tratamento dos transtornos por uso de cocaína e crack, embora diversas classes farmacológicas já tenham sido estudadas (PIANCA et al., 2014; HEEKIN et al., 2017).

O estudo das terapias imunológicas é um campo promissor para o tratamento de dependência química (KINSEY et al., 2010). O GNE-KLH é um imunógeno que apresentou eficácia na indução da produção de anticorpos anti-cocaína em modelos pré-clínicos (CAI et al., 2013).

Metodologia: Ratas Sprague-Dawley foram imunizadas com GNE-KLH (500 µL de emulsão 0,035 µL/mL, i.p.) ou placebo (adjuvante de Freund completo ou incompleto) nos tempos D0, 7, 21 e 42 e foram acasaladas no tempo D35. Foram avaliados o ganho de peso das mães durante a gestação, tempo de gestação, mortalidade materna, tamanho da ninhada e mortalidade dos filhotes. As mães receberam uma dose diária de 20 mg/kg de cocaína durante a gestação. O ELISA determinou a presença de anticorpos IgG e IgM anti-cocaína no soro das mães e filhotes e leite materno e a especificidade desses anticorpos para a cocaína. O modelo de campo aberto determinou o efeito da cocaína na prole após o desmame.

Resultados: Nossos experimentos apontam que: 1. ratas vacinadas com GNE-KLH produzem e mantém títulos de anticorpos IgG e IgM anti-cocaína antes, durante e após a gestação, 2. na presença da exposição gestacional à cocaína, houve redução dos desfechos negativos nas ratas vacinadas quando comparadas às ratas não vacinadas, tais como: menor perda de peso associado à administração da droga e maior tamanho da ninhada, 3. encontramos presença de anticorpos IgG anti-cocaína no leite materno, 4. encontramos presença de anticorpos IgG anti-cocaína nos filhotes após o desmame, mas não de IgM, 5. encontramos redução do efeito comportamental de hiperlocomoção associada à administração aguda de cocaína nos filhotes, 6. anticorpos IgG apresentaram especificidade pela cocaína e 7. Anticorpos IgG apresentaram alta avidez para a ligação à cocaína.

Conclusões: Nossos resultados sugerem que a imunoterapia com a vacina GNE-KLH pode fornecer proteção materno-fetal contra desfechos negativos associados à exposição à cocaína nos períodos gestacional e pós-natal imediato através da produção e transferência de anticorpos IgG anti-cocaína das mães para a prole.

Agradecimentos:
Aos colaboradores, amigos e colegas do Núcleo de Pesquisa em Vulnerabilidade e Saúde da Universidade Federal de Minas Gerais, ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular e à UFMG e às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG.

Referências:

BUTLER, A.J.; REHM, J.; FISCHER, B. Health outcomes associated with crack-cocaine use: systematic review and meta-analyses. Drug and Alcohol Dependence, v. 180, p. 401-416, 2017.

PIANCA, T.G.; REBOUÇAS, D.B.; MENEGON, G.L. Terapias Farmacológicas para os transtornos do uso de cocaína e crack. In: GARCIA, F.D. Manual de abordagem de dependências químicas. Centro Regional de Referência em Drogas (CRR-UFMG). Cap. 11, p. 151-170, 2014.

HEEKIN, R. D.; SHORTER, D.; KOSTEN, T.R. Current status and future prospects for the development of substance abuse vaccines. Expert Review of Vaccines, v. 16, n. 11, p. 1067- 1077, 2017.

KINSEY, B.M.; KOSTEN, T.R.; ORSON, F.M. Active immunotherapy for the treatment of cocaine dependence. Drugs Future, v. 35, n. 4, p. 301-306, 2010.

CAI, X.; WHITFIELD, T.; HIXON, M.S.; GRANT, Y.; KOOB, G.; JANDA, K.D. Probing active cocaine vaccination performance through catalytic and noncatalytic hapten design. Journal of Medical Chemistry, v. 56, n. 9, p. 3701-3709, 2013.

McMURRAY, M.S.; ZESKIND, P.S.; MEINERS, S.M.; GARBER, K.A.; TIEN, H.; JOHNS, J.M. Effect **o**f pre**n**atal **c**ocain**e** on early postnatal thermoregulation and ultrasonic vocalization production. Frontiers in Psychology, v. 4, p. 1-13, 2013.

Dos SANTOS, J.F.; CAVALCANTE, C.M.B.; BARBOSA, F.T.; GITAÍ, D.L.G.; DUZZIONI, M.; TILELLI, C.Q.; SHETTY, A.K.; CASTRO, O.W. Maternal, fetal and neonatal consequences associated with the use of crack cocaine during the gestational period: a systematic review and meta-analysis. Archives of Gynecology and Obstetrics, v. 298, n. 3, p. 487-503, 2018.

CO.13- TRATAMENTO COM N-ACETILCISTEÍNA (NAC) E ANÁLISE TOXICOLÓGICA METIL ETIL CETONA PEROXIDE (MECP): RELATO DE CASO DE UMA INGESTÃO ACIDENTAL

André Bairros 1, Geovane Saldanha 1, Dener Berlato 1, Liliana Moraes 1, Augusto Gündel 2, José Carvalho 2, Isabela Habib 3, Diego De Carli 3, Tiago Oliveira 4, Sarah Oliveira 4
1Núcleo Aplicado a Toxicologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. andrebairros@yahoo.com.br; andre.bairros@ufsm.br
2Laboratório de Análises Clínicas, Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil
3Unidade de Gastroenterologia, Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil
4Grupo de Espectrometria de Massas, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil

Objetivos: Reportar uma rara intoxicação acidental por metil etil cetona peróxido (MECP) durante atividade ocupacional, tratamento e análise toxicológica.

Introdução: Homem (47 anos, 84.5kg, 170cm) ingeriu 110 mL de Butanox® (37% MECP) e foi levado imediatamente ao hospital com fraqueza corporal, dor severa na região epigástrica, diarreia líquida, refluxo com sensação de espessamento na região laríngea, pupilas levemente mióticas e isofotorreagentes.

Metodologia: Uma dose de ataque de 20 sachês (600 mg/sachê) de NAC foi administrada oralmente, com subsequentes doses (10 sachês/4h) por três dias consecutivos. Dipirona (2 mL a 500 mg/mL) foi aplicada e causou vômito. Exames bioquímicos, hematológicos, endoscópicos e toxicológicos foram realizados.

Resultados: Níveis alterados de hemoglobina (20g/dL), hematócrito (58.5%), leucócitos (31420/µL), leucócitos de bastonete (22%), creatinina (1.27mg/dL), ureia (59mg/dL) e creatina fosfoquinase (223 U/L) estavam presentes. A endoscopia mostrou lesões ulcerativas (≥ 22 cm) no trato gastrointestinal com manchas necróticas. Esofagite erosiva ácida de Zargar grau IIB e úlceras gástricas ácidas de Zargar grau IIIA. NAC foi empregada por sua capacidade de eliminar os radicais livres [1,3,4] formados pela metabolização de MECP. Durante reação NAC e MECP, o ácido (2S)-3-[(2-carboxi-2-acetamidoetil)dissulfanil]-acetamidopropanóico e 2-hidroperoxibutan-2-ol são formados, e este é convertido em MEC e excretado na urina. Embora a êmese seja contra-indicada [2,3], os aspectos deste caso foram favoráveis à administração oral exclusiva de NAC. O sangue EDTA coletado 24 horas após a exposição (armazenado a 23ºC/48h) ainda identificou MECP (monômero/dímero) com LC-QTOF/MS, algo inédito até então. MEC foi quantificada por GC-FID (32.85 µg/mL) acima do limite ocupacional (0,1–10 µg/mL) [5]. Os marcadores hepáticos foram elevados durante toda hospitalização e exposição ocupacional deve ser considerada (10 anos sem EPIs), pois Butanox® contém dimetil ftalato, agente hepatóxico absorvido por via respiratória e dérmica [3,4]. A área de trabalho era pequena (4m2) e sem ventilação, causando anosmia e consequente ingestão acidental do solvente em volume potencialmente letal (10-100mL) [4,6].

Conclusões: MECP e MEC foram determinados em sangue e a administração oral de NAC foi um sucesso na intoxicação por MECP. Porém, a terapia exclusiva de NAC oral é arriscada e o paciente deve ser supervisionado atenciosamente durante a hospitalização.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado.

Referências:

[1] C. Van Enckevort, D. Touw, L-J Vleming, N-acetylcysteine and hemodialysis treatment of a severe case of methyl ethyl ketone peroxide intoxication, Clin. Toxicol. 46 (2008) 74-78. https://doi: 10.1080/15563650701232414.

[2] M.S. Shirazy, A.M. Fayed, A survivor of Methyl Ethyl Ketone Peroxide (MEKP) toxicity, J. Clin. Toxicol. 5 (2015) 1- 4. https://DOI: 10.4172/2161-0495.1000257.

[3] N. Bates, C.P. Driver, A. Bianchi, Methyl ethyl ketone peroxide ingestion: toxicity and outcome in a 6-year-old child, Pediatrics 108 (2001) 473–476. https://doi: 10.1542/peds.108.2.473.

[4] M.N. Bozdemir, M. Yildiz, E.S. Seyhanli, S. Gurbuz, I. Kilicaslan, T. Karlidag. Narrowing of airway caused by ingestion of methyl ethyl ketone peroxide. Hum. Exp. Toxicol. 30 (2011) 2002-2006. https://doi: 10.1177/0960327111407230.

[5] NRC - National Research Council, Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals: Volume 10. Chapter 3 – Methyl Ethyl Ketone, Washington 2011, pp. 140-197. https://www.nap.edu/read/13247/chapter/8 (accessed 13 May 2020).

[6] P.J. Karhunen, I. Ojanpera, K. Lalu, E. Vuori, Peripheral zonal hepatic necrosis caused by accidental ingestion of methyl ethyl ketone peroxide. Hum. Exp. Toxicol. 9 (1990) 197–200. https://doi: 10.1177/096032719000900315.

CO.14- PRESENCIA DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES EN LECHE HUMANA EN GUERRERO, MÉXICO

Paulina Otero Jiménez 1, Hugo Albeiro Saldarriaga Noreña 2, Luis Alberto Chávez Almazán 3
1Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, México. Paulina_otero11@outlook.com
2Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del estado de Morelos, México
3Secretaría de Salud de Guerrero, Banco de Sangre Regional "Zona Centro", Chilpancingo, México

Objetivo: Evaluar la presencia de contaminantes orgánicos persistentes y sus concentraciones en mujeres lactantes de las costas de Guerrero, México.

Introducción: Los contaminantes orgánicos persistentes son sustancias altamente tóxicas para la salud humana, por lo que fue prohibida su producción y uso desde hace varias décadas (Weinberg, 2009). Sus propiedades lipofílicas permiten el almacenamiento en tejidos grasos, por lo que pueden detectarse en muestras biológicas tales como la leche materna (Della, 2012). La detección de residuos de dichos contaminantes es fundamental para determinar el riesgo sanitario de una población.

Metodología: Se recolectaron muestras de aproximadamente 50 mL de leche de madres procedentes de las regiones costeras del estado de Guerrero. Los plaguicidas organoclorados y bifenilos policlorados se extrajeron mediante la técnica descrita por (Waliszewski, et al., 2001) y su análisis por cromatografía de gases. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS.

Resultados: Participaron un total de 25 mujeres con una edad promedio de 22.9 años (Mínimo: 16, Máximo: 39) de las regiones Costa Grande (n = 9), Acapulco (n = 9) y Costa Chica (n = 7). La mayoría de ellas habitan en zonas urbanas (88%). Se detectaron plaguicidas organoclorados en más del (80%) de las muestras analizadas (epóxido de heptacloro, dieldrin, endrín, endosulfan II, aldehído de endrín y endosulfan sulfato). El 2,2',5,5'-tetraclorobifenil fue el PCB que estuvo con mayor frecuencia (68%). En general, las concentraciones medias encontradas fueron bajas, desde 0.000027 mg/kg del epóxido de heptacloro hasta 0.0003 mg/kg del endrín; el 2,2',5,5'-tetraclorobifenil estuvo aún más disminuido (0.000008 mg/kg). En la comparación entre regiones, las concentraciones de dieldrín (0.0004 mg/kg), endrín (0.0008 mg/kg), heptacloro (0.0041 mg/kg) y aldehído de endrín (0.0003 mg/kg) fueron superiores en Acapulco. Sólo el endosulfan II tuvo concentraciones mayores (0.0006 mg/kg) en Costa Grande. El 2,4,4', triclorobifenil tuvo valores significativamente más altos ($p = 0.03$) en Costa Chica (0.00030 mg/kg); Costa Grande y Acapulco mostraron concentraciones de 0.00014 y 0.00017 mg/kg, respectivamente. Las escasas concentraciones encontradas en la leche humana son producto de la prohibición de estos agentes químicos, lo que disminuyó la exposición ambiental, no obstante, el consumo de alimentos de origen animal permite que estos contaminantes ingresen constantemente al cuerpo humano.

.

Conclusiones: Este es el primer estudio sobre los hallazgos de residuos de bifenilos policlorados, así como plaguicidas organoclorados diferentes al DDT en muestras humanas. Se encontraron concentraciones más altas en Acapulco que en el resto de las regiones, probablemente este hecho se deba al grado de urbanización existente en esta zona, lo que implica una exposición mayor a los contaminantes estudiados.

Referencias bibliográficas:

Della, LS. (2012). Contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en leche materna de centros urbanos de la provincia de Buenos Aires. Laboratorio de quimica Ambiental y Biogeoquimica, FCNyM, UNLP. 4.

Waliszewski, S., Aguirre, A., Infanzon, R. CS Silva & J. Siliceo. (2001). Niveles de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo materno, suero sanguíneo materno, suero sanguíneo umbilical y leche de habitantes de Veracruz, México. Arco. Reinar. Contam. Toxicol 40, 432-438.

Weinberg, J. (2009). Guía para las ONG sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes. Marco para las medidas de protección de la salud humana y el medio ambiente de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP). Red Internacional de Eliminación de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (IPEN). ONG. 9-15.

CO.15- REVISIÓN DE LOS CASOS DE INTOXICACIÓN Y ENVENENAMIENTO DE ANIMALES INVESTIGADOS POR EL STVF (MURCIA, ESPAÑA) EN 2020

Isabel Navas, Irene Valverde, Pedro María-Mojica, Antonio J. García-Fernández
Servicio de Toxicología y Veterinaria Forense, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, Murcia, España. imnr@um.es; ajgf@um.es

Objetivo: El presente trabajo es una revisión de los casos de envenenamiento de fauna investigados, durante el año 2020, por el Servicio de Toxicología y Veterinaria Forense de la Universidad de Murcia, España (STVF-UM), con el fin de ofrecer datos útiles sobre la casuística y epidemiología de las intoxicaciones y/o envenenamientos, para su aplicación en la gestión de la comercialización de productos químicos y la prevención de riesgos para la salud de las poblaciones animales y de la especie humana.

Introducción: Se estima que el número de casos investigados por los laboratorios especializados en la investigación de intoxicaciones de animales es solo una mínima parte del número real de intoxicaciones, tanto en animales domésticos como en silvestres. Proyectos nacionales, como ANTÍDOTO o el proyecto LIFE VenenoNo (venenono.org), así como los informes de los programas ANTITOX de la Guardia Civil, las memorias anuales de algunas comunidades autónomas o las revisiones que periódicamente publican o comunican los laboratorios especializados de Universidades, forman todos ellos un cuerpo, hasta ahora poco cohesionado e insuficientemente conexo, pero que es bastante interesante como fuente de información sobre la casuística de las intoxicaciones en España. Además, el uso de especies animales como centinelas ha ido cobrando cada vez más protagonismo en los últimos años, dado que animales y humanos compartimos múltiples escenarios de exposición.

Metodología: Esta revisión se ha llevado a cabo a partir de la documentación de los 117 casos registrados en el STVF-UM durante 2020. Los casos fueron clasificados en clínicos (n=9, 7,7%), forenses (n=74, 63,2%), ambientales (n=14, 12,0%) o alimentarios (n=20, 17,1%) en función del destino del resultado. Para este estudio se trabajó únicamente con los casos forenses. Se analizó la casuística en función del compuesto tóxico implicado, el grupo químico al que pertenece, el tipo de mecanismo de acción tóxica que ejerce sobre los animales, las especies afectadas y el grupo de animal al que pertenecen. Además se analizó el origen de la solicitud de la prestación de los servicios forenses (organismos públicos o empresas privadas), el medio en el que se produce el envenenamiento (urbano, rural o natural), así como la distribución espacial en la geografía de España.

Resultados: De los 74 casos se analizaron 348 muestras biológicas, con un total de 1484 análisis toxicológicos realizados. 694 análisis de pesticidas que bloquean el impulso nervioso, 394 análisis de pesticidas con acción predominantemente convulsionante, 240 análisis de anestésicos y tranquilizantes y 156 análisis de rodenticidas anticoagulantes. En el 86% de los casos se concluyó con diagnóstico positivo. En el 49% de los casos había involucrado un carbamato, seguido de un 10% de pesticidas organofosforados (ambos anticolinesterásicos). Se observó, además, un importante aumento, con respecto a años precedentes, del uso de rodenticidas anticoagulantes (34%). El 7% restante de casos tenía como implicados barbitúricos, un caso de organoclorados y otro del anticongelante etilenglicol.

Conclusiones: Las aves rapaces y sobre todo el milano real fueron los más afectados; mereciendo ser destacado, además, un caso de águila imperial con tres individuos envenenados. En cuanto a los mamíferos, perro, gato y zorro fueron las especies más envenenadas.
La mayoría de los casos procedían del medio natural (62%), con una proporción igual entre los medios urbano y rural (19% cada uno).

Conclusiones: Las aves rapaces y sobre todo el milano real fueron los más afectados; mereciendo ser destacado, además, un caso de águila imperial con tres individuos envenenados. En cuanto a los mamíferos, perro, gato y zorro fueron las especies más envenenadas.
La mayoría de los casos procedían del medio natural (62%), con una proporción igual entre los medios urbano y rural (19% cada uno).

Agradecimientos: A los colaboradores del STVF: Pedro María-Mojica, Pilar Gómez-Ramírez, Pedro Jiménez, Silvia Espín, Emma Martínez, Pablo Sánchez-Virosta, José Peñalver, Francisco Sola.

Pósters

Pósteres

JORNADAS IBÉRICAS DE TOXICOLOGIA

P.01 VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE OPIÁCEOS EM URINA COM RECURSO À MICROEXTRAÇÃO EM SERINGA EMPACOTADA

P.02 DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE NEONICOTINOIDES EN PRODUCTOS APÍCOLAS

P.03 DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ACARICIDAS EN CERA

P.04 DISTRIBUCIÓN Y EFECTOS DE NANOPLÁSTICOS EN EMBRIONES DE PEZ CEBRA Y CÉLULAS NEURONALES

P.05 IS OXIDATIVE STRESS THE MAIN CONTRIBUTOR OF CYTOTOXIC EFFECTS OF T-2 INHEPG2 CELLS?

P.06 DESENVOLVIMENTO DE ALGORITMO PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE COMPARATIVA DE FÁRMACOS IN SILICO

P.07 EFEITO DO SULFORAFANO NO STRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO NUM MODELO ANIMAL DE OBESIDADE

P.08 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE STRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO APÓS ADMINISTRAÇÃO DA BAGA DE SABUGUEIRO EM MURGANHOS

P.09 EFEITO DA BAGA DO SABUGUEIRO NO RIM DE MURGANHO: AVALIAÇÃO DO STRESS OXIDATIVO

P.10 EVALUACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN EL CULTIVO DE HIGO (FICUS CARICA L.) EN EL ESTADO DE MORELOS, MÉXICO

P.11 EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A PESTICIDAS Y RIESGO DE SUFRIR DAÑO RENAL TEMPRANO

P.12 DIPLOMA DE ESPECIALIZACIÓN EN TOXICOLOGÍA CLÍNICA. UN TÍTULO PROPIO DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA EN COLABORACIÓN CON LA UNIVERSIDADE DO PORTO

P.13 HISTONE H2AX PHOSPHORYLATION: ASSESSING THE EFFECT OF CRYOPRESERVATION AND CELL STIMULATION IN DNA DAMAGE LEVELS

P.14 IS ENVIRONMENTAL CADMIUM EXPOSURE A RISK FACTOR FOR OSTEOPOROSIS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN? A SYSTEMATIC REVIEW

P.15 VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA AVALIAR A BIODISPONIBILIDADE E BIOACESSIBILIDADE DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DA AYAHUASCA

P.16 ADMINISTRAÇÃO DE XENOBIÓTICOS: DIFUSÃO PELA VIA INTRANASAL POR GOTAS EM RATOS

P.17 IDENTIFICAÇÃO DE OXIDORREDUTASES OBTIDAS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DO CERRADO BRASILEIRO PARA FINS DE BIORREMEDIAÇÃO

P.18 HISTOLOGICAL LESIONS IN HPV16-TRANSGENIC MODEL: THE EFFECT OF HIDROETHANOLIC EXTRACT OF LAVANDULA PENDUCULATA (MILL.) CAV.

P.19 CYTOTOXICITY AND MUTAGENICITY OF PARTICULATE MATTER FROM DOMESTIC ACTIVITIES

P.20 STATUS DE METILAÇÃO GLOBAL DE DNA NA AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO A HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM TRABALHADORES DA PRODUÇÃO DE CARVÃO VEGETAL

P.21 CYTOTOXIC EFFECTS OF SWEET CHERRY PHENOLICS ON CANCER CELLS

P.22 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS USADOS NA AVALIAÇÃO DO ESTADO ECOLÓGICO DE RIBEIRAS DA BACIA DO GUADIANA

P.23 DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS PIRETRÓIDES ATRAVÉS DE EPIDEMIOLOGIA BASEADA EM ESGOTO

P.24 PRUNUS AVIUM L. BY-PRODUCTS AS PHENOLIC-RICH SOURCES: CYTOTOXIC POTENTIAL AGAINST COLORECTAL CANCER CELLS

P.25 T-2 TOXIN-INDUCED CYTOTOXICITY IN HEPG2 CELLS. PROTECTIVE EFFECT OF THE PHENOLIC FRACTION FROM RED BEANS

P.26 CYTOTOXICITY OF PM10 FROM BRAKE WEAR AND TRUCK EXHAUST EMISSIONS TO LUNG CELLS

P.27 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA ESTIMAR O CONSUMO DE DROGAS ATRAVÉS DA ANÁLISE DE ESGOTO

P.28 BIOMONITORIZACIÓN DE METALES EN PAREJAS MADRE-HIJO Y POSIBLES ASOCIACIONES CON MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

P.29 USE OF PULSED ELECTRIC FIELDS (PEF) TO MITIGATE ALTERNARIOL IN FRUIT JUICES

P.30 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA ASSOCIADA A DESINFETANTES DE USO COMUM NO ORGANISMO TESTE *DAPHNIA MAGNA*

P.31 HUMAN BIOMONITORING OF SELECTED HAZARDOUS COMPOUNDS IN PORTUGAL: LESSONS LEARNED

P.32 INTOXICACIÓN PEDIÁTRICA GRAVE POR TRAMADOL. IMPLICANCIAS DIAGNÓSTICAS

P.33 OCORRÊNCIA DE DESOXINIVALENOL (DON) EM TRIGO E FARINHA

P.34 DETERMINAÇÃO DE METABOLITOS DO ETANOL EM AMOSTRAS DE SANGUE SECO (DBS) NA AVALIAÇÃO DO PERFIL DE USO DE ÁLCOOL EM MOTORISTAS PROFISSIONAIS E SUA RELAÇÃO COM ANSIEDADE, DEPRESSÃO E ESTRESSE

P.35 DETERMINACIÓN DE ESTIMULANTES LIBRES POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA/ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC/MS): CASO CLÍNICO

P.36 DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO POR DRIED SALIVA SPOTS PARA A MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DE ANTIDEPRESSIVOS EM FLUIDO ORAL

P.37 DANO HEPÁTICO AGUDO EM DECORRÊNCIA DE INTOXICAÇÕES REPORTADAS PELO CIATOX-DF DE JANEIRO DE 2014 A DEZEMBRO DE 2018

P.38 DETERMINACIÓN POR GC/MS DE BENZOILECGONINA EN NIÑOS POR DEBAJO DEL CUT- OFF DE KITS INMUNOCROMATOGRAFICOS

P.39 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA A DETERMINAÇÃO DE METABÓLITOS DO ETANOL ETG E ETS EM SANGUE POR LC-MS/MS

P.40 DETERMINACIÓN DE 11-NOR-9-CARBOXI-THC POR DEBAJO DEL CUT- OFF DE KITS INMUNOCROMATOGRAFICOS EN NIÑOS POR GC/MS

P.41 IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE EUGENIA UNIFLORA L. EM EXTRATO ETANÓLICO ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (UV-VIS/DAD)

P.42 AFLATOXIN B1 IN BREAKFAST CEREALS: RISK ASSESSMENT OF DIFFERENT POPULATION GROUPS

P.43 CARACTERIZACIÓN DE ACEITES DE CANNABIS DISPONIBLES EN EL MERCADO URUGUAYO.

P.44 EVALUACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD Y RIESGO PARA LA SALUD DEL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN 14 DE LAS VARIEDADES DE ARROZ MÁS CONSUMIDAS EN ESPAÑA

P.45 PERCEÇÃO DE SEGURANÇA E PRÁTICAS DE UTILIZAÇÃO DOS MATERIAIS USADOS PARA CONFEÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ALIMENTOS

P.46 THE NEUROTOXICITY OF DOXORUBICIN IN THE BRAIN OF ADULT CD-1 MICE

P.47 EVALUACIÓN DEL RIESGO TOXICOLÓGICO POR LA INGESTA DE FLUORURO EN LAS AGUAS DE CONSUMO HUMANO DE LA ISLA DE TENERIFE

P.48 MONITORING THE DISTRIBUTION OF DOA IN LONGITUDINAL SECTIONED HAIR SAMPLES BY MALDI-MS IMAGING

P.49 N-METHYL-N-NITROSOUREA TOXICOLOGY: DATA FROM A RAT MODEL

P.50 EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA POR EL CONSUMO DE METALES TÓXICOS (AL, CD, HG Y PB) EN SOPAS INSTANTÁNEAS: REVISIÓN

P.51 UNVEILING THE EFFECTS OF DOXORUBICIN AND MITOXANTRONE ON CARDIAC METABOLISM, HOMEOSTASIS AND AUTOPHAGY IN A MICE MODE

P.52 BIOMONITORAMENTO DA EXPOSIÇÃO HUMANA AO BISFENOL A EMPREGANDO ANÁLISE DE CABELO

P.53 EVALUACIÓN NUTRICIONAL POR EL CONSUMO DE ELEMENTOS ESENCIALES (CA, K, MG, NA, CU, FE, MN Y ZN) EN SOPAS INSTANTÁNEAS: REVISIÓN

P.54 THE SYNTHETIC CANNABINOIDS ADB-FUBINACA AND THJ-2201 AFFECT MITOCHONDRIAL FUNCTION DURING NEURONAL DIFFERENTIATION OF NG108-15 CELLS AT HUMAN-RELEVANT CONCENTRATIONS

P01- VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA A DETERMINAÇÃO DE OPIÁCEOS EM URINA COM RECURSO À MICROEXTRAÇÃO EM SERINGA EMPACOTADA

Ana Y. Simão 1,2 Catarina Monteiro 1, Hernâni Marques 1,2 , Tiago Rosado 1, 2, 3, Mário Barroso 4, Maristela Andraus 5 , Eugenia Gallardo 1,2
1Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS-UBI), Universidade da Beira Interior, 6200-506 Covilhã, Portugal. anaaysa95@gmail.com
2Laboratório de Fármaco-Toxicologia, UBIMedical, Universidade da Beira Interior, 6200-284 Covilhã, Portugal
3C4 - Cloud Computing Competence Centre, Universidade da Beira Interior, 6200-284 Covilhã, Portugal
4Serviço de Química e Toxicologia Forenses, Instituto de Medicina Legal e Ciências Forenses - Delegacão do Sul, 1169-201, Lisboa, Portugal
5Laboratorio ChromaTox Ltda, São Paulo, Brasil

Objetivo: O objetivo deste trabalho é validar um método para a determinação de tramadol, codeína, morfina, 6-monoacetilmorfina, 6-acetilcodeina e fentanil em amostras de urina, com recurso à microextração em seringa empacotada e à cromatografia gasosa acoplada à espetrometria de massas em tandem (GC-MS/MS).

Introdução: De acordo com dados do Observatório Europeu para a Droga e da Toxicodependência, cerca de 1,3 milhões de pessoas consumiram esta classe de estupefacientes, quer a nível terapêutico, quer a nível ilícito [1], sendo assim um desafio e problema de saúde pública, tornando-se imperativo a criação de métodos capazes de quantificar tais substâncias [2,3]. A urina é uma amostra amplamente utilizada em métodos de screening em análises toxicológicas clínicas e forenses. O facto de se tratar de uma amostra de fácil recolha e não invasiva para o paciente, aliado ao facto de que pode ser obtida em volumes consideráveis para análise, torna fácil encontrar concentrações consideráveis das substâncias alvo de análise. Como a janela de deteção

é curta (até 6 dias após consumo, no máximo), torna-se bastante eficiente na monitorização de exposição/consumo recente às drogas de abuso [4,5].

Relativamente à microextração em seringa empacotada (MEPS), esta versão miniaturizada da extração em fase sólida, tem as vantagens de ser uma técnica "amiga do ambiente", rápida, simples e robusta, tendo ainda a vantagem da reutilização do cartucho [6].

Metodologia: As amostras de urina foram centrifugadas a 3500 RPM, durante 15 min. Procedeu-se a uma hidrólise ácida, em que foram adicionados 125 µL de HCl 37% a 250 µL de urina, e a mistura foi aquecida a 115 ºC, durante 38 minutos [7]. A extração foi feita com cartuchos de MEPS: 4mg; 80 % C8 e 20% SC. O acondicionamento foi feito com 250 µL de metanol e 250 µL de ácido fórmico em água (3 ciclos cada). Após este passo, a amostra foi aspirada durante 5 ciclos. A lavagem foi efetuada com 50 µL de ácido fórmico 3,36 % (1 ciclo). Por fim, a eluição foi feita com 2,36 % de hidróxido de amónio em metanol (4 ciclos). Após este processo o extrato foi evaporado à secura, derivatizado com 50 µL de MSTFA+5%TMCS e foram injetados 2 µL no GC em modo splitless. Para a reconstituição do cartucho foram feitos 3 ciclos de 250 µL de metanol e 250 µL de água. O método foi validado de acordo com as diretrizes internacionais da SWGTOX, FDA e WADA [8,9,10].

Resultados: O método foi linear na gama de concentrações de 1 a 1000 ng/mL para todos os compostos, exceto para o fentanil (10 a 1000 ng/mL), com coeficientes de determinação superiores a 0.99. A precisão e exatidão intra- e interdia foram concordantes com as guidelines, e.g., coeficientes de variação e bias ≤ 15% exceto para o calibrador mais baixo (≤ 20%). Os limites de quantificação (LLOQ) variaram entre 1 e 10 ng/mL. A eficiência de extração variou entre 17 e 107%. Salientamos que a baixa eficiência de extração obtida para a morfina não impediu a deteção de

concentrações de 1 ng/mL, à semelhança do que aconteceu com os outros compostos (excepto fentanil, 10 ng/mL). O método foi aplicado a amostras reais de consumidores deste tipo de substâncias.

Conclusões: O presente método foi completamente validado e a técnica de extração provou ser adequada, sensível e robusta para a deteção dos compostos em estudo, utilizando apenas 250 µL de urina. Este é o primeiro método a utilizar MEPS e GC-MS/MS para a determinação simultânea destes seis opiáceos em amostras de urina.

Agradecimentos: Este trabalho tem o apoio dos fundos FEDER através de POCI—COMPETE 2020—Operational Programme Competitiveness and Internationalisation in Axis I— Strengthening research, technological development and innovation (Project POCI-01-0145- FEDER-007491) e da FCT—Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projecto UID/Multi/00709/2020). A. Simão, gostaria de agradecer ao Programa Santander-Totta Universidades na forma de Bolsa com referência BID/UBI-Santander Universidades/2019. T. Rosado agradece aos Centro de Competências em Cloud Computing, através da bolsa de investigação (C4_WP2.6_M1—Bioinformatics; Operação UBIMEDICAL—CENTRO-01-0145- FEDER-000019—C4—Centro de Competências em Cloud Computing, supported by Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

Referências:

1. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction: European Drug Report 2018: Trends and Developments; 2018.
2. Meadway, C.; George, S.; Braithwaite, R. A rapid GC-MS method for the determination of dihydrocodeine, codeine, norcodeine, morphine, normorphine and 6-MAM in urine. Forensic Sci. Int. 2002, 127, 136–141.

3. Barroso, M.; Gallardo, E.; Vieira, D.N.; Queiroz, J.A.; López-Rivadulla, M. Bioanalytical procedures and recent developments in the determination of opiates/opioids in human biological samples. Anal. Bioanal. Chem. 2011, *400*, 1665–1690.
4. Malaca, S.; Rosado, T.; Restolho, J.; Rodilla, J.M.; Rocha, P.M.M.; Silva, L.; Margalho, C.; Barroso, M.; Gallardo, E. Determination of amphetamine-type stimulants in urine samples using microextraction by packed sorbent and gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 2019, *1120*, 41–50.
5. Barroso, M.; Gallardo, E.; Queiroz, J.A. Bioanalytical methods for the determination of cocaine and metabolites in human biological samples. Bioanalysis 2009, *1*, 977–1000.
6. Abdel-Rehim, M. Microextraction by packed sorbent (MEPS): A tutorial. Anal. Chim. Acta 2011, *701*, 119–128.
7. Costa S, Barroso M, Castañera A, Dias M. Design of experiments, a powerful tool for method development in forensic toxicology: application to the optimization of urinary morphine 3-glucuronide acid hydrolysis. Anal Bioanal Chem. 2010 Apr; 396(7):2533-42.
8. Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX), Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology. J. Anal. Toxicol. 2013, *37*, 452–474.
9. U.S. Department of Health and Human Services; Food and Drug Administration, Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry Biopharmaceutics Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry Available online: http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/default.htm (accessed on Jan 23, 2021).
10. World Anti-doping Agency, International standard for laboratories: identification criteria for qualitative assays incorporating column chromatography and mass spectrometry, (2010). https://www.wadaama.org/sites/default/files/resources/files/WADA_TD2010IDCRv1.0_Identification%20Criteria%20for%20Qualitative%20Assays_May%2008%202010_EN.doc.pdf (accessed Jan 23, 2021).

P02- DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE NEONICOTINOIDES EN PRODUCTOS APÍCOLAS

Silvia Valverde1,2, José Bernal 1, María Jesús Nozal 1, José Luis Bernal 1, Ana María Ares 1
1I.U. CINQUIMA, GRUPO TESEA, Universidad de Valladolid, Paseo de Belén 7, 47011, Valladolid, España. ana.maria.ares@uva.es
2Departamento de Química Agrícola y Bromatología, Universidad Autónoma de Madrid, Ciudad Universitaria de Cantoblanco, 28049, Madrid, España.

Objetivo: Resumir las condiciones experimentales y los resultados más relevantes de cuatro metodologías analíticas que se han desarrollado para la determinación de neonicotinoides en diferentes productos apícolas (miel, cera de abejas, polen de abeja y jalea real).

Introducción: Los productos agroquímicos, incluidos los plaguicidas, se utilizan en la actualidad con el fin de mejorar la eficiencia y la calidad de los cultivos actuando sobre diversas enfermedades y plagas. Desafortunadamente, varios estudios han demostrado que algunos de estos compuestos pueden tener efectos nocivos sobre el medio ambiente, así como sobre la salud humana y animal. En particular, los neonicotinoides, que son los insecticidas más utilizados en el mundo, están señalados como uno de los posibles responsables de la desaparición de abejas. Los neonicotinoides pueden entrar a la colmena, ya sea directa o indirectamente, y los residuos de estos plaguicidas pueden encontrarse en última instancia en productos apícolas como la miel, cera, polen y jalea real.

Metodología: En todos los casos se emplearon métodos de cromatografía líquida de ultra-alta resolución acoplados a espectrometría de masas en tándem. Se propusieron diferentes tratamientos de muestra en función del producto apícola estudiado. Estos incluyeron extracción en

fase sólida (miel y jalea real), metodologías basadas en QuEChERS (rápido, fácil, económico, efectivo, robusto y seguro; polen de abeja y miel), extracción con disolvente combinada con extracción en fase sólida dispersiva (cera de abejas) y microextracción líquido-líquido dispersiva (jalea real). Todos los métodos fueron validados y aplicados al análisis de muestras de diferentes orígenes (colmenares experimentales y comerciales).

Resultados: Los resultados mostraron que todas las muestras de cera de abejas y jalea real analizadas estaban libres de residuos de neonicotinoides, y esto también se observó en las muestras comerciales de miel. Es más, sólo se encontraron residuos de imidacloprida en dos de las veintiuna muestras estudiadas, pero en ambos casos las cantidades estuvieron por debajo del límite de detección. Además, se detectaron residuos de tiametoxam y clotianidina en algunas mieles de colmenares experimentales. Se detectó tiametoxam en seis muestras, aunque solo se cuantificó en una (140 µg/kg); también se encontraron residuos de clotianidina en una sola muestra (40 µg/kg).

Conclusiones: Se ha demostrado que es necesario proponer métodos específicos para determinar los neonicotinoides en cada uno de los productos apícolas estudiados. Los resultados han mostrado que debido a los diferentes componentes de la matriz ha sido necesario optar por diferentes enfoques, no solo para extraer los analitos, sino también para realizar una adecuada limpieza de las muestras, eliminando tantos componentes de la matriz como sea posible para minimizar el posible efecto adverso.

Agradecimientos: Ministerio de Economía y Competitividad y el Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA) a través del Proyecto RTA 2013-0042-C10-03.

P03- DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE ACARICIDAS EN CERA

María Jesús Nozal 1, Edgar Imaz 1, José Luis Bernal 1, José Luis Nieto 1, Mariano Higes 2, José Bernal 1
1I.U. CINQUIMA, GRUPO TESEA, Universidad de Valladolid, Paseo de Belén 7, 47011, Valladolid, España. jose.bernal@uva.es
2Instituto Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario y Forestal de Castilla La Mancha (IRIAF), Centro de Investigación Apícola y Agroambiental, Camino de San Martín, s/n, 19180, Marchamalo, Guadalajara, España.

Objetivo: Incrementar el conocimiento sobre la presencia de los plaguicidas más frecuentemente detectados en la cera de abejas determinando su contenido en láminas de cera de abejas (naturales, purificadas y descontaminadas), habitualmente utilizadas por los apicultores españoles.

Introducción: En los últimos años, muchos países europeos y norteamericanos han informado de graves pérdidas en las poblaciones de abejas melíferas. Actualmente, Nosema ceranae y Varroa destructor son los principales patógenos que causan problemas de salud en las colonias de abejas en Europa. En particular, los problemas creados por Varroa destructor han requerido el uso de diferentes compuestos, como los acaricidas, cuya efectividad es cada vez menor debido en gran parte a fenómenos de resistencia. Esta situación provoca que se apliquen con frecuencia dosis superiores a las recomendadas, lo que implica una alta probabilidad de aparición de residuos en los diferentes productos de la colmena, principalmente polen y cera de abejas.

Metodología: Se propone un método novedoso para determinar los residuos de siete acaricidas (atrazina, clorpirifós, clorfenvinfós, alfa-endosulfán, bromopropilato, cumafós, tau-fluvalinato) en cera de abeja

famediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se trata de un tratamiento de muestras sencillo y eficaz, que implica la extracción por disolvente que implica la extracción con ácido acético al 1% en una mezcla con acetonitrilo seguido de una extracción en fase sólida dispersiva (eliminación de lípidos) y una posterior etapa de limpieza. También se optimizaron las condiciones cromatográficas; se empleó una columna Agilent DB-5MS, el gas portador es helio a un caudal de 1.2 mL/min, y se utilizó un programa de temperatura que permite la separación de todos los compuestos en menos de 20 min. El método fue completamente validado en términos de selectividad, límites de detección y cuantificación, efecto matriz, linealidad, precisión y veracidad.

Resultados: Residuos de los compuestos en estudio aparecieron con bastante regularidad en las ceras analizadas, a excepción de las ceras descontaminadas en el que la cantidad/número de residuos fue significativamente menor. También se puede concluir que tau-fluvalinato estaba presente en la mayoría de las muestras, seguidas de coumafos y clorfenvinfos. Además los resultados de los estudios de campo demostraron que en todos los casos hubo transferencia de plaguicidas de las láminas a la cera utilizada por las abejas para construir las celdas. Esta transferencia varió según el compuesto y la concentración inicial en las ceras de base.

Conclusiones: Se han encontrado cantidades apreciables de los acaricidas estudiados en un gran número de muestras de cera, aunque las ceras descontaminadas contenían pocos acaricidas y en concentraciones muy bajas. Por lo que se sugiere que este tipo de cera debe usarse siempre que sea posible.

Agradecimientos: Plan Nacional de Investigación Científica, Técnica y Innovación 2013-2016. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agroalimentaria-INIA–FEDER. Proyecto RTA2017-00004-C02-01 y 02.

P04- HOW LOW LEVELS OF THE ANTIBIOTIC CIPROFLOXACIN TRIGGER BIOCHEMICAL AND BEHAVIOURAL CHANGES ON THE POLYCHAETE HEDISTE DIVERSICOLOR

Ana Filipa Nogueira 1,2, Bruno Nunes 1,2
1Centro de Estudos do Ambiente e do Mar, CESAM, Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro. ferreira.nogueira@ua.pt
2Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro

Objectives: This work aimed to characterize the acute and chronic effects of ciprofloxacin in the polychaete Hediste diversicolor (Annelida: Polychaeta), exposed to environmentally relevant levels of this drug, close to the real concentrations of this pharmaceutical in surface waters.

Introduction: Pharmaceutical drugs in the wild have unpredictable ecological consequences, and knowledge concerning their putative toxic effects is still scarce (Jones et al., 2005; Huerta-Fontela et al., 2011; Koné et al., 2013). One example of a widely used pharmaceutical that is present in the aquatic environment is ciprofloxacin. Previous indications suggest that this drug may exert several adverse effects on exposed biota, but the characterization of a full ecotoxicological response to this drug is far from complete, especially in estuarine ecosystems (Chin & Neu, 1984; Zeiler, 1985; Zeiler, 1986).

Methodology: Individuals of H. diversicolor were acutely exposed to ciprofloxacin – 96 hours [0.00 (control), 0.01, 0.1, 1, 10 and 100 µg/L]; and also chronically – 28 days [0.00 (control), 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 10 µg/L]. The adopted toxic endpoints were behavioral parameters (burrowing and locomotor activity), combined with a biomarker-based approach [quantification of the activities of catalase (CAT) (Aebi, 1984), glutathione-S-transferase (GSTs) (Habig, 1974), cholinesterases (ChEs)

(Ellman et al., 1961), glutathione peroxidase (GPx) (Flohé and Günzler, 1984), and lipid peroxidation levels (Buege & Aust, 1978)].

Results: Exposure to ciprofloxacin caused effects on behavioural traits, such as an increase in the burrowing time and hyperactivity, and alterations in biomarkers, including a significant increase of CAT activity following the acute exposure. In addition, and after both exposure periods, lipid peroxidation was reduced, while AChE activities were enhanced. It was possible to ascertain the occurrence of pro-oxidative alterations following exposure to low levels of ciprofloxacin, which were counteracted by the triggering of CAT activity. The meaning of the enhancement of AChE activity is not clear, but the here observed behavioural changes suggest that an increase of the activity of this enzymatic form may have been associated to the stimulation of the behavioural traits.

Conclusion: This set of data strongly suggest that the presence of ciprofloxacin in estuarine areas is not without risks, and exposed biota, namely polychaete species, are likely to have their ecological roles affected, thereby compromising the chemical, physical and microbiological stability of sediments, and altering nutrients cycles.

References:

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology Oxygen Radicals in Biological Systems, 121-126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology Biomembranes - Part C: Biological Oxidations, 302-310. doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6.

Chin, N. X., & Neu, H. C. (1984). Ciprofloxacin, a quinolone carboxylic acid compound active against aerobic and anaerobic bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 25(3), 319- 326. doi:10.1128/aac.25.3.319.

Ellman, G. L., Courtney, K., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, 7(2), 88-95. doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9.

Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. Methods in Enzymology Oxygen Radicals in Biological Systems, 114-120. doi:10.1016/s0076-6879(84)05015-1.

Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry, 249(22), 7130-7139.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2011). Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. Water Research, 45(3), 1432-1442. doi:10.1016/j.watres.2010.10.036.

Jones, O. A., Lester, J. N., & Voulvoulis, N. (2005). Pharmaceuticals: A threat to drinking water? Trends in Biotechnology, 23(4), 163-167. doi:10.1016/j.tibtech.2005.02.001.

Koné, M., Cologgi, D. L., Lu, W., Smith, D. W., & Ulrich, A. C. (2013). Pharmaceuticals in Canadian sewage treatment plant effluents and surface waters: Occurrence and environmental risk assessment. Environmental Technology Reviews, 2(1), 17-27. doi:10.1080/21622515.2013.865793.

Zeiler, H. J. (1985). Evaluation of the in vitro bactericidal action of ciprofloxacin on cells of Escherichia coli in the logarithmic and stationary phases of growth. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 28(4), 524-527. doi:10.1128/aac.28.4.524.

Zeiler, H., & Grohe, K. (1986). The In Vitro and In Vivo Activity of Ciprofloxacin. Ciprofloxacin, 14- 18. doi:10.1007/978-3-663-01930-5_3.

PP05- IS OXIDATIVE STRESS THE MAIN CONTRIBUTOR OF CYTOTOXIC EFFECTS OF T-2 IN HEPG2 CELLS?

Mercedes Taroncher, Yelko Rodríguez-Carrasco, María-Jose Ruiz
University of Valencia, Department of Food Chemistry and Toxicology, Av/ Vincent A.Estellés, s/n, 46100, Burjassot, Valencia, Spain. mercedes.taroncher@uv.es

Objective: To determine cytotoxic effects of T-2 toxin (T-2) in human hepatocarcinoma (HepG2) cells through oxidative stress mechanisms. Introduction: Mycotoxins are produced by fungi, mainly from the genera Fusarium, Penicillium and Aspergillus, found in cereals grown in temperate regions. The T-2 is a type A trichothecene produced by Fusarium species. The cytotoxic effect of T-2 was evaluated in HepG2 by in vitro methods. Oxidative stress was determined by reactive oxygen species (ROS) generation, lipid peroxidation (LPO) formation and mitochondrial membrane potential (MMP) dysfunction in HepG2 after T-2 exposure.

Methodology: The methods used to evaluate the cytotoxic effects of T-2 were MTT and Protein Content (PC) assays after 24 h of incubation. The concentrations of T-2 ranged from 100 to 12.5 nM. The MTT assay determines the viability of cells by the reduction of yellow soluble tetrazolium salt, via a mitochondrial-dependent reaction to an insoluble purple formazan crystal. The PC method is based on the increase of absorbance of Coomassie Brilliant Blue dye when binding to proteins. To determine oxidative stress concentrations 7.5, 15 and 30 nM T-2 were selected. To evaluate ROS generation the fluorescent dichlorofluorescein (DCF) probe during 120 min was used. The ROS level was monitored by measuring the increase in fluorescence, which is proportional to DCF production. The production of LPO was carried out by TBARS method which measures the MDA-TBA adducts formed in HepG2 cells exposed to

ET-2 during 24 h. Changes in mitochondrial membrane potential (MMP) were evaluated using the Rh-123 probe after 24 h of exposure.

Results: Cells exposed to T-2 revealed a decrease in cell viability in a time and concentration-dependent manner by MTT and PC assays. However, an increase in cell viability was observed in T-2 from 28% to 42% after 25 nM and 37.5 nM, respectively, compared to control, by PC assay. The increase in cell viability can be due to the hormetic effect. Higher viability values were observed in HepG2 cells exposed to T-2 by MTT assay than by PC assay. Similar IC50 values for T-2 were obtained by both methods. Furthermore, T-2 induced an increase in ROS generation. The highest increase was from 217% to 275%, at 5 min of T-2 exposure in HepG2 cells. Also, it was observed an increase in MMP of 64% and 106% at 15 nM and 30 nM respect to the control. However, the T-2 did not increase the production of MDA in HepG2 cells at the concentrations tested (7.5, 15 and 30 nM).

Conclusions: Our findings suggest that T-2 could damage HepG2 cells via oxidative stress at nanomolar concentrations. However, oxidative stress could not to be the main causal factor to the cytotoxicity of T-2 in HepG2 cells, and further assays should be carried out.

Agradecimientos: Conselleria d'Innovació, Universitats, Ciència i Societat Digital. Proyecto: GV/2020/020 (Generalitat Valenciana).

References:

Taroncher, M.; Rodríguez-Carrasco, Y.; Ruiz, M.-J. T-2 Toxin and its metabolites: characterization, cytotoxic mechanisms and adaptive cellular response in human hepatocarcinoma (HepG2) cells. Food Chem. Toxicol. 2020, 145, 111654, https://doi:10.1016/j.fct.2020.111654.

Wu, Q.-H., Wang, X., Yang, W., Nüssler, A.K., Xiong, L.-Y., Kuca, K., Dohnal, V., Zhang, X.-J., Yuan, Z.-H., 2014. Oxidative stress-mediated cytotoxicity and metabolism of T-2 toxin and deoxynivalenol in animals and humans: an update. Arch. Toxicol. 88, 1309–1326. https://doi:10.1007/s00204-014-1280-0.

EFSA, 2017. Panel on contaminants in the food chain (CONTAM); scientific report on human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin. EFSA J 15, 4972. https:// doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4972.

P06- DESENVOLVIMENTO DE ALGORITMO PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE COMPARATIVA DE FÁRMACOS IN SILICO

Giulia Timo, Mauricio Homem-de-Mello
Laboratório de Toxicologia in Silico. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil. giulia.timo@aluno.unb.br

Objetivos: Estruturar um algoritmo para classificação toxicológica de fármacos aplicando métodos in silico por meio dos programas Derek, Sarah, Vitic e Meteor do software Nexus da Lhasa Ltda®.

Introdução: O método in silico é um instrumento computacional útil na pesquisa e desenvolvimento de fármacos, pois realiza uma varredura de milhões de moléculas e analisa suas interações através de relação estrutura-atividade (SAR) com alvos proteicos em curto tempo (1). Portanto, pode ser utilizado tanto para descobrimento de novos compostos (2, 3), quanto para reposicionamento (4, 5) e predição de toxicidade.

Considerando o último caso, a Lhasa® desenvolveu o software Nexus, que possui programas como Derek (prediz toxicidade de grupos toxicofóricos) (6, 7), Sarah (prediz mutagenicidade) (8), Vitic (sistematiza informações toxicológicas de substâncias em base de dados) (9) e Meteor (prediz metabolismo) (10, 11).

Pretendendo analisar comparativa e quantitativamente a toxicidade de fármacos, foi desenvolvido um algoritmo para pontuar e sistematizar as informações do software, para auxiliar a seleção de fármacos de menor toxicidade para futuros estudos.

Metodologia e resultados: Resultado demonstrado pelas pontuações em parênteses.

Derek (DK)

1. E*ndpoint* baseado em resultados *IN VITRO* (1) ou *IN VIVO* global (2) ou sistema-específico;
2. Sistema-específicos (1-5);
3. Probabilidade de ocorrência (1-5);
4. Toxicidade dos 61 *endpoints* do *software* (0,5-5).

Probabilidade ∗ (*in vitro*; *in vivo GLOBAL*; *in vivo sist. específico*) ∗ *nível de tox. do endpoint* = *DK*

Sarah (SAR)

POSITIVO ou NEGATIVO, de 0-100% em probabilidade (0-5).

Vitic (VT)

Considerando que os 11 endpoints do Vitic estão dentro do Derek, seu resultado foi usado de forma a comprovar ou anular pontuação Derek visto que é retirado de base de dados e não de predição. Se comprova (multiplica-se Derek por 2), se anula (multiplica-se por 0).
Se não encontrado no Vitic, multiplica-se resultado Derek por 1, como alerta.

Meteor (MT)

1) Probabilidade de formação dos metabólitos (0-2);
2) *Screening* dos metabólitos no Derek (ver DK);
3) Taxa de excreção inalterada (0-1).

{[(Σ*outcomes*∗*pontuação Derek*)∗*probabilidade ocorrência*]∗*tx. excr. inalterada*} / *nmetabólitos* = MT

Ao fim, gera-se o Expert Toxicity Score (X-Tox):

$DK + SAR + VT + MT$ = X − Tox

Conclusões: Foi desenvolvido um algoritmo para analisar comparativa e quantitativamente predições toxicológicas de moléculas utilizando o software Nexus da Lhasa®. Por meio de análise sistemática dos endpoints e regras do sistema, foi possível aplicar pontuações baseadas nos potenciais toxicológicos das predições e na confiabilidade do resultado provido pelo programa. Com o somatório dos resultados, pode-se supor o potencial toxicológico de substâncias. Apesar disso, ainda são necessários mais ensaios e validações para analisar o potencial preditivo do software e do algoritmo desenvolvido, que estão sendo realizados.

Referências:

1. Maganti L, Grandhi P, Ghoshal N. Integration of ligand and structure based approaches for identification of novel MbtI inhibitors in Mycobacterium tuberculosis and molecular dynamics simulation studies. J of Mol Graph and Mod. 2016;70:14-22.
2. Leelananda SP, Lindert S. Computational methods in drug discovery. Beilstein J Org Chem. 2016;12:2694-718.
3. Timo GO, Reis RSSVD, Melo AF, Costa TVL, Magalhães PO, Homem-de-Mello M. Predictive Power of In Silico Approach to Evaluate Chemicals against M. tuberculosis: A Systematic Review. Pharmaceuticals. 2019;12(3).
4. Gns HS, Gr S, Murahari M, Krishnamurthy M. An update on Drug Repurposing: Re-written saga of the drug's fate. Biomed Pharmacother. 2019;110:700-16.
5. Pushpakom S, Iorio F, Eyers PA, Escott KJ, Hopper S, Wells A, et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. Nat Rev Drug Discov. 2019;18(1):41-58.
6. Cariello NF, Wilson JD, Britt BH, Wedd DJ, Burlinson B, Gombar V. Comparison of the computer programs DEREK and TOPKAT to predict bacterial mutagenicity. Mutagenesis. 2002;17(4):321-9.

7. Diukendjieva A, Al Sharif M, Alov P, Pencheva T, Tsakovska I, Pajeva I. ADME/Tox Properties and Biochemical Interactions of Silybin Congeners: In silico Study. Nat Prod Commun. 2017;12(2):175-8.
8. Honma M. An assessment of mutagenicity of chemical substances by (quantitative) structure-activity relationship. Genes and environment: the Official Journal of the Japanese Environmental Mutagen Society. 2020;42:23-.
9. Marchant CA, Briggs KA, Long A. In silico tools for sharing data and knowledge on toxicity and metabolism: derek for windows, meteor, and vitic. Toxicol Mech Methods. 2008;18(2-3):177-87.
10. Al Sharif M, Vitcheva V, Simeonova R, Krasteva I, Manov V, Alov P, et al. In silico and in vivo studies of Astragalus glycyphylloides saponin(s) with relevance to metabolic syndrome modulation. Food Chem Toxicol. 2019;130:317-25.
11. Mardal M, Dalsgaard PW, Qi B, Mollerup CB, Annaert P, Linnet K. Metabolism of the synthetic cannabinoids AMB-CHMICA and 5C-AKB48 in pooled human hepatocytes and rat hepatocytes analyzed by UHPLC-(IMS)-HR-MS(E). J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2018;1083:189-97.

P07- EFEITO DO SULFORAFANO NO STRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO NUM MODELO ANIMAL DE OBESIDADE

R. Sequeira1, L. Félix 1,2, S. M. Monteiro 1, T. Martins 1, P. A. Oliveira 1, M.J. Pires 1, B. Colaço 1, A. I. Barros 1, E. Rosa 1, L. Antunes 1, C. Venâncio 1
1Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. rita_sequeira14@hotmail.com
2Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (i3S), Laboratório de Ciência Animal (LAS), Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC), Universidade do Porto, Portugal.

Objetivo: Este trabalho tem como objetivo verificar o efeito do sulforafano, sobre os parâmetros de stresse oxidativo hepático num modelo animal (murganhos) de obesidade.

Introdução: A obesidade é uma doença que atinge grande parte da população mundial, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de outras patologias como diabetes e hipertensão (Hariri e Thibault 2010). O brócolo faz parte da dieta humana e constitui uma importante fonte de moléculas bioativas, incluindo, por exemplo, carotenóides, vitaminas antioxidantes e diferentes glucosinolatos, que são transformados em isotiocianatos promotores da saúde, em particular o sulforafano (SFN), que contém propriedades de promoção da saúde contra diferentes doenças crónicas (Aranaz, Navarro-Herrera et al. 2019). Diversos estudos têm vindo a demonstrar que o SFN pode ser utilizado na prevenção e tratamento da obesidade (Martins, Colaço et al. 2018).

Metodologia: Trinta e cinco murganhos machos C57BL/6J (8 semanas) foram aleatoriamente divididos em cinco grupos experimentais e mantidos de acordo com a Diretiva Europeia 2010/63/UE. Grupos: i) dieta controlo (CTR); ii) dieta ocidental (WD), rica em gorduras e açúcares; iii) CTR + 0,5 mg/kg/dia SFN (4 semanas); iv) WD + 0,25 mg/kg/dia SFN (4 semanas); v)WD + 0,5 mg/kg/dia SFN (4 semanas).

O ensaio teve a duração de 14 semanas, a incorporação de SFN na dieta ocorreu apenas nas últimas quatro semanas do estudo para se obter uma abordagem terapêutica. Após a occisão, o fígado foi recolhido e processado para analisar a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx), glutationa redutase (GR), glutationa S-transferase (GST), bem como os níveis de glutationa nas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), peroxidação lipídica (LPO) e espécies reativas de oxigênio (ROS) por métodos convencionais.

Resultados: A atividade de SOD aumentou nos grupos iii, iv e v em comparação com o grupo CTR, enquanto a atividade da CAT diminuiu no grupo iii também relativamente ao controlo. Os grupos tratados com SFN apresentaram um ligeiro aumento da atividade da GPx, apenas significativamente diferente entre os grupos ii e iv ($p < 0,05$). Os níveis de ROS encontraram-se aumentados nos grupos tratados com SFN, existindo diferenças no grupo iv e v em comparação com o grupo CTR ($p < 0,05$), no entanto o índice de stress oxidativo (GSH/GSSG) e o LPO não estavam alterados.

Conclusões: A administração de SFN estimulou a atividade da SOD e a produção de ROS particularmente nos animais sujeitos a uma dieta ocidental. Estes resultados demonstram que este composto poderá ter efeitos pró-oxidantes nas doses administradas, necessitando de um estudo mais aprofundado para entender os riscos de toxicidade com dietas energéticas e/ou indivíduos obesos.

Financiamento: Financiado pelo Projeto VALORIZEBYPRODUCTS, referência nº 029152, financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) e cofinanciado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do COMPETE 2020 - Programa de Competitividade Operacional e Internacionalização (POCI) e Fundação Portuguesa para Ciência e Tecnologia, no âmbito do projeto UIDB / 04033/2020.

Referências:

Hariri, N. e Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. Nutrition Research Reviews, 23(2): 270-299.

Aranaz, P., Navarro-Herrera, D., Romo-Hualde, A., Zabala, M., López-Yoldi, M., González-Ferrero, C., Gil, A. G., Martinez, J. A., Vizmanos, J. L., Milagro F. I. e González-Navarro C. J (2019). Broccoli extract improves high fat diet-induced obesity, hepatic steatosis and glucose intolerance in Wistar rats. Journal of Functional Foods, 59: 319-328.

Martins, T., Colaço, B., Venâncio, C., Pires, M. J., Oliveira, A., Rosa, E. e Antunes, L. M. (2018). Potencial effects of sulforaphane to fight obesity. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(8): 2837-2844.

P08- AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE STRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO APÓS ADMINISTRAÇÃO DA BAGA DE SABUGUEIRO EM MURGANHOS

Filipa Teixeira 1, Luís Félix 2,3, Tiago Azevedo 1, Maria Inês Dias 4, Lillian Barros 4, Isabel C.R.F. Ferreira 4, Tiago Ferreira 1, Eduardo Rosa 1, Paula A. Oliveira 1, Carlos Venâncio 1,3
1University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal.
2Laboratory Animal Science, i3S - Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade of Porto, Porto, Portugal. filipamrt237@gmail.com
3Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal.
4Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

Analisar o stresse oxidativo no fígado de murganhos após consumirem um extrato de bagas de sabugueiro rico em antocianinas (EBS) para confirmar a sua inocuidade ao ser usado como corante alimentar natural.
As investigações para o uso de bagas de sabugueiro (Sambucus nigra L.) (BS), como corante natural, decaem sobre o seu potencial no combate ao stresse oxidativo dado o seu elevado teor de compostos bioativos [1]. As antocianinas, os principais componentes das BS [2], têm uma grande capacidade de combater as espécies reativas de oxigénio (ROS) [3], podendo atuar diretamente ou através da estimulação das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) [4]. Uma vez que o fígado é o órgão onde estes compostos vão ser metabolizados, este estará diretamente sujeito aos efeitos antioxidantes. Neste sentido será importante avaliar os parâmetros oxidativos frequentemente alterados em consequência de lesão hepática [5].
O extrato seco foi obtido do sumo das BS após liquidificação das mesmas, congelação e liofilização. A composição em compostos fenólicos antociânicos foi determinada através de HPLC-DAD-ESI/MS. A estabilidade das antocianinas foi controlada, em condições de armazenamento que mimetizam a manutenção da água para os animais, durante 48, 72 e 96

horas. Para os ensaios de stress oxidativo, foram utilizados 24 murganhos fêmeas da estirpe FVB/n com 8 semanas de idade divididas aleatoriamente por 4 grupos (G) às quais se administrou na água de bebida durante 8 dias o EBS nas seguintes doses: G1 – Controlo, G2 – 12 mg/mL, G3 – 24 mg/mL e G4 – 48 mg/mL. Após a occisão os fígados foram recolhidos para avaliar os seguintes parâmetros indicadores do stresse oxidativo: ROS, peroxidação lipídica (TBARS), glutationa oxidada e reduzida (GSSG e GSH), e a atividade das enzimas SOD, CAT, glutationa peroxidase (GPx) e glutationa S-transferase (GST).

Foram tentativamente identificadas três antocianinas no sumo das BS (derivados *O*-glicosilados de cianidina), sendo a cianidina-3-*O*-sambubioside o composto encontrado em maior quantidade. Para além disso, houve manutenção da concentração de compostos antociânicos após 5 dias de armazenamento. A atividade da SOD encontrou-se aumentada no grupo 4 relativamente aos grupos controlo e 3. A atividade da CAT diminui no grupo 4 relativamente ao controlo. Não se verificaram diferenças significativas entre os grupos em relação aos níveis de GSH, GSSG, GSH/GSSG, quantificação do dano oxidativo (TBARS), ROS, e à atividade da GPx e GST.

O extrato utilizado na dose mais elevada interferiu na primeira linha de defesa antioxidante. Apesar de não existirem indicações de outras alterações nos parâmetros oxidativos determinados recomendamos uma avaliação num conjunto mais alargado de indicadores para perceber a sua interferência na função hepática, nomeadamente o estudo histológico e a determinação das enzimas de funcionalidade hepática.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e tecnologia (FCT, Portugal) pelo apoio financeiro através de fundos nacionais FCT/MCTES ao CIMO (UIDB/00690/2020); pelo financiamento da Bolsa de Doutoramento de T.F. (2020.04789.BD); aos fundos nacionais da FCT, PI através do contrato-programa institucional de emprego científico

para os contratos de M.I.D. e L.B. Ao programa FEDER-Interreg España-Portugal pelo apoio financeiro através do projeto TRANSCoLAB 0612_TRANS_CO_LAB_2_P; ao ERDF através do Programa Operacional Regional Norte 2020, pelo projeto Mobilizador Norte-01-0247-FEDER-024479: ValorNatural®.

Referências:

1. Młynarczyk, K., D. Walkowiak-Tomczak, and G.P. Łysiak, Bioactive properties of Sambucus nigra L. as a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. Journal of Functional Foods, 2018. 40: p. 377-390.
2. Neves, D., et al., A new insight on elderberry anthocyanins bioactivity: Modulation of mitochondrial redox chain functionality and cell redox state. Journal of Functional Foods, 2019. 56: p. 145-155.
3. Prokop, J., et al., In vivo evaluation of effect of anthocyanin-rich wheat on rat liver microsomal drug-metabolizing cytochromes P450 and on biochemical and antioxidant parameters in rats. Food and Chemical Toxicology, 2018. 122: p. 225-233.
4. Ullah, R., et al., Natural Antioxidant Anthocyanins-A Hidden Therapeutic Candidate in Metabolic Disorders with Major Focus in Neurodegeneration. Nutrients, 2019. 11(6): p. 1195.
5. Afsharinasab, M., et al., The effect of hydroalcoholic Berberis integerrima fruits extract on the lipid profile, antioxidant parameters and liver and kidney function tests in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Saudi Journal of Biological Sciences, 2020. 27(8): p. 2031-2037.

P09- EFEITO DA BAGA DO SABUGUEIRO NO RIM DE MURGANHO: AVALIAÇÃO DO STRESS OXIDATIVO

Diana Lopes 1, Luís Félix 2,3, Tiago Azevedo 2, Maria Inês Dias 4, Lillian Barros 4, Isabel C.R.F. Ferreira 4, Tiago Ferreira 2, Eduardo Rosa 2, Paula A. Oliveira 2, Carlos Venâncio 2
1Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal, diana94lopes@hotmail.com
2Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal.
3Laboratory Animal Science, i3S - Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade of Porto, Porto, Portugal.
4Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

Objetivo: Este trabalho pretendeu avaliar a toxicidade do extrato da baga de sabugueiro, rico em antocianinas, no rim após a sua administração por via oral em murganhos. Nesse sentido, analisámos as alterações nos parâmetros de stresse oxidativo renais para verificar a sua inocuidade.

Introdução: As bagas de sabugueiro (Sambucus nigra L.) utilizadas na medicina popular são extratos com uma elevada abundância em compostos bioativos [1], principalmente flavonoides e antocianinas [2]. De acordo com a literatura, numa avaliação histológica os extratos de sabugueiro protegem os tecidos renais, contra o dano causado pela hipertensão, desencadeado entre outros fatores pelo aumento de espécies reativas de oxigénio (ROS) [3]. No entanto, os efeitos destes extratos em diferentes parâmetros de stresse oxidativo renal não estão suficientemente esclarecidos.

Metodologia: O extrato seco foi obtido do sumo das bagas de sabugueiro após liquidificação das mesmas, congelação e liofilização. A composição em compostos fenólicos antociânicos foi determinada

através de HPLC-DAD-ESI/MS. Foram utilizados 24 murganhos fêmeas da estirpe FVB/n com 8 semanas de idade para constituir aleatoriamente 4 grupos (G) às quais se administrou na água de bebida durante 8 dias o extrato de baga de sabugueiro rico em antocianinas nas seguintes doses: G1 – Controlo, G2 – 12 mg/mL, G3 – 24 mg/mL e G4 – 48 mg/mL. Após o sacrifício dos animais os rins foram recolhidos para a avaliação dos seguintes parâmetros indicadores do stresse oxidativo através do uso de técnicas colorimétricas e espetrofotométricas: ROS, peroxidação lipídica (TBARS), glutationa oxidada e reduzida (GSSG e GSH), e a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx) e glutationa S-transferase (GST).

Resultados: Foram tentativamente identificadas três antocianinas no sumo de sabugueiro (derivados O-glicosilados de cianidina), sendo a cianidina-3-O-sambubioside o composto maioritário. Verificou-se um aumento da atividade da SOD no grupo 4 em relação aos grupos controlo e 2. A atividade da GPx diminui nos grupos 3 e 4 em comparação com o grupo controlo. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na avaliação dos restantes parâmetros.

Conclusão: As doses mais elevadas interferiram na atividade antioxidante ao nível renal, sendo necessário uma análise mais detalhada de outros parâmetros (histologia e funcionalidade renal) para determinar o motivo destas alterações. Também assume importância a avaliação da atividade da glutationa redutase, determinar o nível de selénio no tecido renal e verificar os parâmetros da função renal.

Agradecimentos: Os autores agradecem à Fundação para a Ciência e tecnologia (FCT, Portugal) pelo apoio financeiro através de fundos nacionais FCT/MCTES ao CIMO (UIDB/00690/2020); pelo financiamento da Bolsa de Doutoramento de T.F. (2020.04789.BD); aos fundos nacionais da FCT e PI através do contrato-programa institucional de emprego científico

para os contratos de M.I.D. e L.B. Ao programa FEDER-Interreg España-Portugal pelo apoio financeiro através do projeto TRANSCoLAB 0612_TRANS_CO_LAB_2_P; ao ERDF através do Programa Operacional Regional Norte 2020, pelo projeto Mobilizador Norte-01-0247-FEDER-024479: ValorNatural®.

Referências:

1. Młynarczyk, K., D. Walkowiak-Tomczak, and G.P. Łysiak, Bioactive properties of Sambucus nigra L. as a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. Journal of Functional Foods, 2018. 40: p. 377-390.
2. Neves, D., et al., A new insight on elderberry anthocyanins bioactivity: Modulation of mitochondrial redox chain functionality and cell redox state. Journal of Functional Foods, 2019. 56: p. 145-155.
3. Sidor, A. and A. Gramza-Michałowska, Advanced research on the antioxidant and health benefit of elderberry (Sambucus nigra) in food – a review. Journal of Functional Foods, 2015. 18: p. 941-958.

P010- EVALUACIÓN DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN EL CULTIVO DE HIGO (FICUS CARICA L.) EN EL ESTADO DE MORELOS, MÉXICO

Jael Rosas Sánchez 1, Hugo Albeiro Saldarriaga Noreña 2, Irene Iliana Ramírez Bustos 3, Josefina Vergara-Sánchez 4, Luis Alberto Chávez-Almazán 5, Mario Alfonso Murillo-Tovar 6
1 Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, C.P. 62209, México. jael.rosassan@uaem.edu.mx.
2 Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del estado de Morelos, México
3 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., Hermosillo Sonora, C.P. 83304, México
4 Laboratorio de Análisis Ambiental y Sustentabilidad, Escuela Superior de Estudios Superiores Xalostoc, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Ayala, Morelos, México
5 Secretaría de Salud de Guerrero, Banco de Sangre Regional "Zona Centro", Chilpancingo, México
6 CONACYT- IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México

Objetivo: Evaluar la presencia de residuos de plaguicidas en cultivos de higo ubicados en el estado de Morelos.

Introducción: El higo (Ficus carica L.) pertenece a la familia Moraceae, fue de los primeros árboles frutales cultivados en el mundo; sus propiedades nutritivas han llamado la atención de los consumidores por este producto [1]. El estado de Morelos es el principal productor de higo en la República Mexicana, aportando aproximadamente el 50% de la producción nacional [2]. A pesar de que las regulaciones oficiales en México solo permiten el uso de algunos plaguicidas, es común encontrar residuos de algunas sustancias prohibidas [3].

Metodología: Las muestras de higo se colectaron en 15 cultivos diferentes localizados en el estado de Morelos, México, la extracción de los residuos de plaguicidas se realizó mediante el método *QuEChERS*, el análisis se llevó a cabo por cromatografía de gases acoplada a

espectrometría de masas triple cuadrupolo (CG-QqQ) y cromatografía de líquidos de ultra rendimiento acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS-MS).

Resultados: En total se detectaron 9 plaguicidas en los cultivos muestreados. De los 9 plaguicidas, 5 estuvieron por encima de los niveles máximos de residuos permitidos (MRLs). Los plaguicidas con mayor concentración fueron tiofanato-metilo (0,733 mg/kg), clorotalonil (0,445 mg/kg), propamocarb (0,395 mg/kg) y carbendazim (0,313 mg/kg). Los más frecuentes fueron Tiofanato-metilo y Clorotalonil, ambos se presentaron 4 veces en las 16 muestras analizadas.
Por su parte, los índices de riesgo para la salud (IRS) evaluados para todos los plaguicidas detectados, fueron inferiores a 1, lo que indica en primera instancia que no representan un riesgo para la salud humana. Sin embargo, es de destacar que la ingesta dietética de plaguicidas estimada en este estudio, consideró solo las exposiciones por el consumo de higo y no incluyeron otras frutas, verduras, granos, lácteos, pescado, carne, entre otros. Estos hallazgos sugieren la necesidad de un programa de monitoreo continuo de residuos de plaguicidas en los diversos productos vegetales cultivados para consumo humano en el estado de Morelos.

Conclusiones: La presencia de residuos de plaguicidas en los cultivos de higo, algunos de ellos prohibidos en otros países, resulta preocupante dados los efectos negativos sobre la salud de los consumidores. Estos hallazgos revelan, el uso inadecuado y distribución clandestina de plaguicidas en el estado de Morelos.

Agradecimientos: El presente trabajo agradece al Programa de Becas de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Referencias bibliográficas:

1. Baldoni, D., Ventura-Aguilar, R. I., Hernández-López, M., Corona-Rangel, M. L., Barrera-Necha, L. L., Correa-Pacheco, Z., & Bautista-Baños, S. (2016). Calidad postcosecha de Higos 'Black Mission tratados con cubiertas naturales. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 17(2).

2. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola: Producción Higo. Disponible en: https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/. Fecha de consulta 17 de abril 2020.

3. Martínez V. y Gómez A. S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores Agrícolas, Revista Internacional Contaminación Ambiental 23. (4) 185-200.

P011- EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A PESTICIDAS Y RIESGO DE SUFRIR DAÑO RENAL TEMPRANO

JAlfredo G. Casanova 1,2,3, Jose Martin-Reina 4, Laura Vicente-Vicente 1,2,3, Javier Tascón 1,2,3, Marta Prieto 1,2,3, Moisés Pescador 1,3, Juan D. Bautista 5, Isabel Moreno 4, Ana I. Morales 1,2,3

1 Unidad de Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, España. alfredogcp@usal.es

2 Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Hospital Universitario de Salamanca, Universidad de Salamanca, CSIC. España

3 Translational Research on Renal and Cardiovascular Diseases (TRECARD), Salamanca, España.

4 Área de Toxicología, Universidad de Sevilla, España

5 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Sevilla, España.

Los pesticidas son un amplio conjunto de compuestos utilizados para controlar, repeler o destruir plagas vegetales y animales, cuya exposición es especialmente relevante para los trabajadores de diferentes sectores agrícolas (1). Uno de los mecanismos de acción tóxica asociado a los pesticidas es el estrés oxidativo (2), el cual es uno de los principales causantes de los procesos
nefrotóxicos (3). En base a ello, el objetivo de este trabajo fue determinar si la exposición a pesticidas en trabajadoras agrícolas podría estar relacionada con el desarrollo de daño renal.

Se reclutaron mujeres trabajadoras de una empresa de conservas vegetales residentes en Marinaleda (Sevilla, España), que fueron divididas en dos grupos: Agricultoras (n = 22), responsables de la recolección de los productos agrícolas; y NOE (no ocupacionalmente expuestas, n = 17), trabajadoras de la fábrica conservera. Se recogieron muestras de sangre y orina cada tres meses a lo largo de un año. Se generó una base de datos con sus principales parámetros antropométricos y bioquímicos, incluyendo sus actividades colinesterásicas y sus biomarcadores clásicos

de daño renal (creatinina y urea plasmáticas). Además, se cuantificó su excreción urinaria de proteínas y de algunos de los biomarcadores de daño renal temprano más conocidos: N-acetil-beta-D-glucosaminidasa (NAG), molécula de daño renal 1 (KIM-1) y lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL). Estos parámetros urinarios se compararon con los de 16 mujeres sanas (grupo Control) no relacionadas con este tipo de actividad laboral.

No se observaron diferencias significativas en los principales factores antropométricos evaluados, y los parámetros bioquímicos sanguíneos de daño renal se encontraron dentro de la normalidad en los dos grupos de estudio. Sin embargo, se detectaron excreciones significativamente superiores de los cuatro biomarcadores urinarios evaluados en los grupos Agricultoras y NOE con respecto al grupo Control, aunque sin diferencias entre ellos (excepto en la excreción de KIM-1, que fue mayor en el grupo NOE). Además, se encontraron correlaciones significativas entre algunos de estos biomarcadores urinarios y las colinesterasas en sangre (concretamente, se identificaron coeficientes de correlación significativos para proteinuria, KIM-1 y NGAL en el grupo Agricultoras; y para KIM-1 y NGAL en el grupo NOE). Estos resultados sugieren la existencia de una relación entre la exposición a pesticidas y el desarrollo de daño renal temprano. La realización de un estudio más amplio que permita confirmar estos hallazgos abre la posibilidad de utilizar biomarcadores precoces de daño renal como medida preventiva en la progresión de la enfermedad renal en este tipo de población.

Referencias bibliográficas:

1. NIH. Pesticides [Internet]. National Institute of Environmental Health Sciences. 2021 [citado 2021 May 14]. Disponible en: https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pesticides/index.cfm

2. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. Med Sci Monit. 2004 Jun;10(6):RA141-147.
3. Hosohata K. Role of Oxidative Stress in Drug-Induced Kidney Injury. Int J Mol Sci [Internet]. 2016 Nov 1 [citado 2021 May 14];17(11). Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5133827/

P012- DIPLOMA DE ESPECIALIZACIÓN EN TOXICOLOGÍA CLÍNICA. UN TÍTULO PROPIO DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA EN COLABORACIÓN CON LA UNIVERSIDADE DO PORTO

Laura Vicente 1,2,3, Marta Prieto1,2,3, Moisés Pescador1,3, Javier Tascón1,2,3, Isabel Fuentes2,3, Carolina Pereira Amorim4, Jorge Soares4, Renata Silva4, Fernando Remião4, Ana I. Morales1,2,3

1Unidad de Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, España. lauravicente@usal.es

2Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Hospital Universitario de Salamanca, Universidad de Salamanca, CSIC. España

3Translational Research on Renal and Cardiovascular Diseases (TRECARD), Salamanca, España.

4Laboratório de Toxicologia, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto

Como resultado del proyecto Europeo TOX-OER financiado por Erasmus + se creó el Título Propio “Diploma de Especialización en Toxicología Clínica”, impartido por profesores de las Universidades de Salamanca (USAL, España) y Porto (UP, Portugal). Este Diploma, de 30 créditos ECTS, aborda aspectos clínicos de la Toxicología desde una perspectiva actual: efectos tóxicos de fármacos y drogas de abuso; toxicocinética; órgano especificidad; analítica y forense; desarrollo preclínico de fármacos. La docencia es 100% on-line. El objetivo de este trabajo fue conocer la aceptación y utilidad real del "Diploma de especialización en Toxicología Clínica". Para ello, en el último trimestre del curso se ha realizado una encuesta de satisfacción (anónima) a los alumnos que actualmente lo están cursando. Las preguntas de esta encuesta se formularon con el objetivo de conocer la procedencia de los estudiantes, su titulación académica, su situación profesional, el grado de satisfacción con el Título Propio, la opinión sobre los diferentes materiales aportados (videos, textos, actividades, autoevaluaciones, material interactivo) así como la utilidad de los conocimientos adquiridos en su ámbito laboral. Se dejó un espacio para aquellos estudiantes que quisieran sugerir alguna mejora.

Los resultados de la encuesta mostraron que la modalidad on-line ha permitido que se matriculen estudiantes de diferentes nacionalidades, siendo el 14% de Portugal, 21% de América Latina y 65% de España. La mayor parte son titulados en Farmacia o ciencias relacionadas; un elevado porcentaje trabaja en oficina de farmacia. De modo general están muy satisfechos con el Título Propio, destacando los materiales interactivos, actividades y autoevaluaciones. Todos reportan que los conocimientos adquiridos son útiles para mejorar su ejercicio profesional. Las sugerencias propuestas por los estudiantes servirán para introducir mejoras en cara al posterior curso académico.

Como conclusión cabe resaltar que la colaboración entre la USAL y la UP ha dado lugar a la creación de un Título Propio sobre Toxicología Clínica muy bien aceptado por parte de sus estudiantes. La formación que proporciona es de gran utilidad en el ámbito profesional.

Para más información: https://toxicologiasalamanca.org/presentacion-perfil-de-ingreso/.

P013- HISTONE H2AX PHOSPHORYLATION: ASSESSING THE EFFECT OF CRYOPRESERVATION AND CELL STIMULATION IN DNA DAMAGE LEVELS

Xavier Duarte 1,2, Joana Oliveira 1,3,4, João Paulo Teixeira 1,3,4, Joana Madureira 1,3,4, Carla Costa 1,3,4
1 Environmental Health Department, National Institute of Health, Porto, Portugal. up201503725@edu.fc.up.pt
2 ICBAS-Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, Portugal
3 EPIUnit-Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto, Porto, Portugal
4 Laboratório para a Investigação Integrativa e Translacional em Saúde Populacional (ITR), Porto, Portugal

H2AX histone phosphorylation (γH2AX) can be used as a biomarker of genotoxicity or DNA repair, as it constitutes the cell's initial response against DNA double-strand breaks (DSBs), the most serious form of DNA damage [1]. In human biomonitoring studies, considering the high number of samples collected, it is often necessary to freeze them; however, information on the possible effects of cryopreservation in γH2AX levels, or on how samples respond to stimulation by phytohemagglutinin (PHA) is still scarce [2].

To address this issue, γH2AX levels were assessed by flow cytometry, based on protocols previously described [2,3,4] with small adjustments, in both fresh and cryopreserved peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) samples. The influence of stimulation in DNA damage induction and DNA damage response was also determined with PHA stimulation before and after treatment with various genotoxic compounds known to cause DSB induction such as bleomycin, camptothecin and methyl methanesulfonate.

Results show that the freezing process (-80ºC) causes an increment in γH2AX levels; this increase may be reversed with stimulation or overnight recovery in cells with high levels of damage but not in controls. It has also

been observed that cell stimulation with PHA before treatment raises γH2AX levels comparatively to unstimulated cells in both fresh and frozen cells. On the other hand, cell stimulation after treatment with the genotoxic compounds showed an increase in γH2AX levels in fresh cells but a decrease in γH2AX levels in frozen cells comparatively to unstimulated cells.

This study was able to clarify the effect of cryopreservation and cell stimulation in γH2AX levels, providing a scientific basis for the adoption of better study design and sample handling in future biomonitoring studies, fitted to investigation purposes.

Acknowledgments: This work was supported by FCT and FAPESP (FAPESP/19914/2014). JM and CC also acknowledge FCT for their individual grants (SFRH/BPD/115112/2016, and SFRH/BPD/96196/2013, respectively).

References:

[1] Valdiglesias, V., Giunta, S., Fenech, M., Neri, M., & Bonassi, S. (2013). γH2AX as a marker of DNA double strand breaks and genomic instability in human population studies. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 753(1), 24-40.

[2] Sánchez-Flores, M., Pásaro, E., Bonassi, S., Laffon, B., & Valdiglesias, V. (2015). γH2AX assay as DNA damage biomarker for human population studies: Defining experimental conditions. Toxicological Sciences, 144(2), 406-413.

[3] Tanaka, T., Halicka, D., Traganos, F., & Darzynkiewicz, Z. (2009). Cytometric analysis of DNA damage: phosphorylation of histone H2AX as a marker of DNA double-strand breaks (DSBs). In Chromatin Protocols (pp. 161-168). Humana Press.

[4] Watters, G. P., Smart, D. J., Harvey, J. S., & Austin, C. A. (2009). H2AX phosphorylation as a genotoxicity endpoint. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 679(1-2), 50-58.

P014- IS ENVIRONMENTAL CADMIUM EXPOSURE A RISK FACTOR FOR OSTEOPOROSIS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN? A SYSTEMATIC REVIEW

Carlos Kunioka 1,2, Maria Conceição Manso 1,3,4, Márcia Carvalho 1,3,5
1FP-ENAS, Fernando Pessoa Energy, Environment and Health Research Unit, University Fernando Pessoa, Porto, Portugal. phdtadashi@gmail.com
2Western Paraná State University (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brazil
3Faculty of Health Sciences, University Fernando Pessoa, Porto, Portugal
4LAQV, REQUIMTE, University of Porto, Porto, Portugal
5UCIBIO, REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal

Aims: This study aims to summarize the evidence about osteoporosis and environmental Cd exposure through a systematic review approach.
Background: Osteoporosis is a major public health problem worldwide causing bone fragility and fractures [1]. This bone disorder is most prevalent in women over the age of 50 with the onset of menopause. Cadmium (Cd) exposure has long been associated to bone disorders since the outbreak of Itai-itai disease reported in Japan [2]. However, to date, there are limited studies investigating the association between long-term environmental Cd exposure and risk of bone disorders in postmenopausal women.

Methods: A literature review, registered in PROSPERO with the number CRD42021241377, was implemented within databases of Scopus, PubMed, Science Direct, and Web of Science using the search strategy (cadmium AND women AND 'bone density' AND environmental exposure) NOT (men OR child OR children OR animals) based on articles published since 2010. Urinary Cd (U-Cd) concentration was used as biomarker of long-term Cd exposure [3] and bone mineral density (BMD) for the assessment of bone status and osteoporosis [4]. Data extraction and assessment were guided by the PRISMA checklist [5]. Data were analysed using Review Manager (RevMan) software [6].

The risk of bias was evaluated by two independent reviewers.

Results: Sixteen out of 116 retrieved studies were included in the systematic review. A high diversity of average U-Cd was observed in these studies, ranging from 0.01 to 63.1 μg/g creatinine. Ten studies compared control and polluted areas of Cd exposure, with most studies (7/10) showing significantly higher U-Cd and lower BMD in polluted groups. Albeit the BMD was measured with different devices/technologies and at different skeletal sites, therefore hindering a direct comparison, the percentage of osteoporosis spanned up to 59.4% in Cd-polluted areas. The other 6 studies were observational cross-sectional studies and all of them found that BMD was significantly decreased with increasing U-Cd levels. Correlation between U-Cd and BMD was studied and 13/16 studies found a statistically significant inverse association between U-Cd and BMD in postmenopausal women. The prevalence of osteoporosis was estimated in 10 out of 16 studies and was positively correlated with U-Cd concentrations in 7/10 studies.

Conclusion: The results of this systematic review indicate that environmental Cd exposure seems to be a reliable risk factor for osteoporosis in postmenopausal women. Importantly, this study provides evidence on the public health impact of environmental exposure to Cd.

References:

[1] Curtis EM, Moon RJ, Harvey NC, Cooper C (2017). The impact of fragility fracture and approaches to osteoporosis risk assessment worldwide. Bone, 104:29-38.

[2] Reyes-Hinojosa D, Lozada-Pérez CA, Zamudio Cuevas Y, et al. (2019). Toxicity of cadmium in musculoskeletal diseases. Environ Toxicol Pharmacol, 72:103219.

T[3] Åkesson A, Barregard L, Bergdahl IA, et al. (2014). Non-renal effects and the risk assessment of environmental cadmium exposure. Environ Health Perspect, 122:431-8.
[4] Clynes MA, Westbury LD, Dennison EM, et al. (2020). Bone densitometry worldwide: a global survey by the ISCD and IOF. Osteoporos Int, 31:1779-86.
[5] Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. Syst Rev, 10:89.
[6] Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014.

P015- VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA AVALIAR A BIODISPONIBILIDADE E BIOACESSIBILIDADE DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES DA AYAHUASCA

Joana Gonçalves 1,2, Miguel Castilho 1, Ângelo Luís 1,2, José Restolho 1, Eugenia Gallardo 1,2, Ana Paula Duarte 1,2

1 Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS-UBI), Universidade da Beira Interior, Av. Infante D. Henrique, 6200-506 Covilhã, Portugal. joanadgoncalves13@gmail.com

2 Laboratório de Fármaco-Toxicologia, UBIMedical, Universidade da Beira Interior, Estrada Municipal 506, 6200-284 Covilhã, Portugal

Objetivos: Este estudo visa o desenvolvimento de um método analítico que permita a determinação dos principais constituintes da Ayahuasca, de modo a avaliar in vitro a biodisponibilidade e bioacessibilidade

Introdução: A Ayahuasca é uma bebida psicoativa, preparada a partir das folhas de P. viridis e do caule de B. caapi, cujo consumo mundial tem aumentado. Esta bebida possui DMT (N,N-dimetiltriptamina), um composto alucinogénico, que, por ação dos alcalóides β-carbolínicos sobre a MAO-A, acede à corrente sanguínea e exerce os seus efeitos ao nível do sistema nervoso central.

Métodos: Foi utilizada a linha celular derivada do tumor gastrointestinal Caco-2, e avaliadas a permeabilidade e integridade da monocamada celular. Posteriormente, foi avaliada a permeabilidade desta aos compostos (após digestão in vitro e sem digestão) presentes em quatro plantas (P. viridis, B. caapi, M. hostilis e P. harmala) e quatro misturas de plantas (P. viridis e B. caapi; P. viridis e P. harmala; M. hostilis e B. caapi; M. hostilis e P. harmala), utilizadas na preparação desta decocção, bem como numa mistura comercial. Após a digestão e incubação, a quantificação dos compostos foi realizada por cromatografia líquida acoplada a um detetor de diode array. De forma a validar o método, foram utilizados parâmetros internacionalmente aceites para a validação de métodos analíticos, como a seletividade, linearidade, limites de deteção (LOD) e quantificação (LLOQ), precisão e exatidão.

Resultados: Este método mostrou-se linear entre 0,16 e 10,00 µg/mL, para o Harmol, Tetrahidroharmina, Harmalina e Harmina, entre 0,31 e 10,00 µg/mL para o Harmalol e entre 0,031 e 1,00 µg/mL para o DMT, sendo os coeficientes de determinação (R2) superiores a 0,997. A precisão intra e interdia revelaram coeficientes de variação inferiores a 15% e a exatidão situou-se no intervalo de ±15%. Os LOD e LLOQ obtidos foram de 0,31 µg/mL para todos os compostos, exceto para o DMT onde estes valores foram de 0,031 µg/mL. Os resultados obtidos permitiram verificar que após o início da digestão os compostos foram libertados da matriz, ficando bioacessíveis. Verificou-se também que após incubação celular dos extratos, os compostos atravessaram a barreira celular, tornando-se biodisponíveis. Adicionalmente, os parâmetros de integridade e permeabilidade da monocamada celular mostraram-se aceitáveis e os extratos não apresentaram citotoxicidade.

Conclusões: Considerando os resultados, concluiu-se que os parâmetros avaliados no desenvolvimento do método analítico estão de acordo com os critérios definidos internacionalmente e este método foi aplicado a amostras de Ayahuasca, permitindo a quantificação de seis compostos desta decocção. Foi ainda possível concluir que a digestão é indispensável para a libertação de compostos da matriz, sendo fulcral para que estes se tornem biosdisponíveis e bioacessíveis.

Agradecimentos: Este trabalho tem o apoio dos fundos FEDER através de POCI—COMPETE 2020—Operational Programme Competitiveness and Internationalisation in Axis I—Strengthening research, technological development and innovation (Project POCI-01-0145-FEDER-007491) e da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projecto UID/Multi/00709/2020). Joana Gonçalves agradece a bolsa de doutoramento FCT (Referência: SFRH/BD/149360/2019). Ângelo Luís agradece o contrato de Emprego Científico financiado pela FCT.

Referências:

Simão AY.; Gonçalves J.; Duarte A.P.; Barroso M.; Cristóvão A.C.; Gallardo E. Toxicological Aspects and Determination of the Main Components of Ayahuasca: A Critical Review. Medicines 2019, 6, 106, doi:10.3390/medicines6040106.

Gonçalves, J.; Luís, Â.; Gallardo, E.; Duarte, A.P. Psychoactive Substances of Natural Origin: Toxicological Aspects, Therapeutic Properties and Analysis in Biological Samples. Molecules 2021, 26, 1397.

P016- ADMINISTRAÇÃO DE XENOBIÓTICOS: DIFUSÃO PELA VIA INTRANASAL POR GOTAS EM RATOS

M. Nunes-Pereira 1,2,3, C. Venâncio 1,2, S. Alves-Pimenta 1,2, B. Colaço 1,2
1 Departamento de Zootecnia, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias (ECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal. margaridap@utad.pt
2 Centro de Investigação e de Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), UTAD, Vila Real, Portugal

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi a avaliação da difusão de um corante na cavidade nasal e no encéfalo de rato, com o intuito de caracterizar a via de administração intranasal por gotas de xenobióticos.

Introdução: Nas últimas décadas a administração de xenóbióticos por via IN tem surgido como uma opção no estudo e tratamento de diversas alterações do sistema nervoso central, uma vez que permite a passagem direta da cavidade nasal para o encéfalo (via líquido cefalorraquidiano, nervos olfativo e trigémio), evitando assim a distribuição sistémica, o metabolismo hepático e a passagem pela barreira hemato-encefálica [1].
O método de administração IN mais utilizado em roedores é a administração por gotas, na qual o animal é contido enquanto as gotas são aspiradas [2]. Este método permite depositar o xenobiótico na cavidade nasal, no entanto, a quantidade média de dose que chega ao encéfalo após a administração IN é inferior a 1% [3] sendo necessário volumes elevados para atingir o encéfalo, resultando na saturação da cavidade nasal e na drenagem de fluido para o esófago e/ou traqueia [2]. Apesar do potencial desta via, a reprodutibilidade e a interpretação dos dados permanece assim um desafio, o que tem levado à utilização de diferentes abordagens de administração, dificultando a comparação dos resultados obtidos, evidenciando a necessidade do estabelecimento de uma metodologia consistente [4].

Metodologia: O estudo foi realizado em 6 cadáveres de rato Wistar, fêmeas com um peso de 215 a 304 g e cerca de 2 anos de idade. Foram administrados 30 µL de corante verde com o auxílio de uma micropipeta e ponta acoplada inserida na narina direita 1-2 mm durante cerca de 30 s, com animal em decúbito dorsal e cabeça inclinada a 45°. Após 30 min. procedeu-se à dissecação da cavidade nasal e craniana e foi feita a avaliação por inspeção visual da distribuição do corante, nos meatos nasais, no labirinto etmoidal, lâmina crivosa e bulbos olfativos.

Resultados: Após a inspeção visual verificou-se a dispersão do corante pelos meatos nasais médio e ventral em 100% (6+/6) dos animais, pelo meato nasal dorsal e labirinto etmoidal em 83,3% (5+/6), a lâmina crivosa apresentou-se totalmente corada na face rostral em 66,7% (4+/6), e não foi observada a passagem de corante pela lâmina crivosa para os bulbos olfativos em nenhum animal.

Conclusão: Podemos concluir que pelo método de administração IN por gotas em cadáver o corante difundiu-se pela cavidade nasal corando uniformemente o meato nasal ventral e medial, mas não atingiu de forma uniforme o labirinto etmoidal e a lâmina crivosa não se verificando difusão até aos bulbos olfativos. Mais estudos serão necessários com a utilização de outros métodos de administração IN e em animais vivos de modo, a determinar qual permitirá de forma consistente a melhor distribuição de xenobiótico e sua difusão pela lâmina crivosa com o objetivo de atingir os bulbos olfativos minimizando a absorção sistémica.

Agradecimentos:
Este trabalho é apoiado/financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., no âmbito do projeto UIDB/04033/2020, no âmbito do Estímulo ao Emprego Científico – Apoio Institucional – CEECINST/00127/2018, e pela bolsa de investigação 2020.06947.BD (Nunes-Pereira, M.).

Referências:

1. Martins, P. P., Smyth, H., & Cui, Z. (2019). Strategies to facilitate or block nose-to-brain drug delivery. International journal of pharmaceutics, 570, 118635. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118635.

2. Hoekman, J. D., & Ho, R. J. (2011). Effects of localized hydrophilic mannitol and hydrophobic nelfinavir administration targeted to olfactory epithelium on brain distribution. AAPS PharmSciTech, 12(2), 534–543. https://doi.org/10.1208/s12249-011-9614-1.

3. Landis, M. S., Boyden, T., & Pegg, S. (2012). Nasal-to-CNS drug delivery: where are we now and where are we heading? An industrial perspective. Therapeutic delivery, 3(2), 195–208. https://doi.org/10.4155/tde.11.149.

4. Dhuyvetter, D., Tekle, F., Nazarov, M., Vreeken, R. J., Borghys, H., Rombouts, F., Lenaerts, I., & Bottelbergs, A. (2020). Direct nose to brain delivery of small molecules: critical analysis of data from a standardized in vivo screening model in rats. Drug delivery, 27(1), 1597–1607. https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1837291.

P017- IDENTIFICAÇÃO DE OXIDORREDUTASES OBTIDAS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DO CERRADO BRASILEIRO PARA FINS DE BIORREMEDIAÇÃO

Ana Beatriz Gouveia 1, Jayanarayan Martins Ferreira Andrade 1, Pérola de Oliveira Magalhães Dias Batista 2, André Luiz Firmino 3, Danilo Batista Pinho 4, Mauricio Homem-de-Mello 1

1 Laboratório de Toxicologia in silico, Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília/DF, Brasil. anabiagouveia@gmail.com

2 Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília/DF, Brasil

3 Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo/MG, Brasil

4 Departamento de Fitopatologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília/DF, Brasil

Objetivo: Avaliação da produção de enzimas oxidorredutases por fungos endofíticos do cerrado brasileiro para fins de biorremediação.

Introdução: Metabólitos secundários de microrganismos endofíticos ganharam destaque nos últimos anos devido a seu potencial interesse biotecnológico. Enzimas ligninolíticas, por exemplo, podem ser utilizadas para fins de biorremediação, como na degradação de poluentes de solos e águas residuais.[1] Resíduos de hospitais, por exemplo, podem possuir uma alta concentração de compostos farmacêuticos ativos e, geralmente, são descartados sem tratamento no ambiente. Um estudo demonstrou a redução da concentração de diversos resíduos farmacológicos de águas residuais do Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, utilizando *T. versicolor*.[2] Há relatos também do uso de fungos para a degradação de benzopireno, cuja hipótese principal é a degradação extracelular por peroxidases.3.

Metodologia: Foram selecionadas, aleatoriamente, duas folhas de *Solanum falciforme* Farrugia (lobeira), localizada nos arredores da Universidade de Brasília.

Após a descontaminação das folhas, foram cortados pedaços de 1cm² posteriormente incubados em ágar Sabouraud para cultivo dos fungos. Inicialmente identificaram-se 3 fungos morfologicamente semelhantes, mas foram selecionados dois para este estudo.
Para identificação do fungo escolhido, foi realizada extração e amplificação do DNA genômico. Foram selecionadas as regiões ITS e LSU4, enviadas para purificação e sequenciamento na empresa especializada Macrogen Inc., Coreia.
Foram realizados ensaios de lacases e peroxidases totais, ambos realizados em triplicata analítica em placa de 96 poços, com leitura em espectrofotômetro.

Resultados: Após isolamento e identificação molecular dos fungos de folhas da árvore *Solanum falciforme* Farrugia (lobeira), o primeiro foi identificado como Diaporthe rosiphthora, enquanto o segundo foi confirmado como uma nova espécie do gênero.
A partir da realização de curva de crescimento pelo período de 15 dias, observou-se que ambos foram capazes de produzir oxidorredutases. D. rosiphthora teve três picos de lacases, nos dias 8, 11 e 14, e um de peroxidases totais, no 11º dia. Já a nova espécie teve um pico de lacases no 11º dia e dois picos de peroxidases, dias 10 e 12.

Conclusão: O presente estudo mostrou que duas espécies de fungo do gênero Diaporthe, sendo uma delas uma nova espécie, isoladas de uma árvore nativa do cerrado brasileiro, foram capazes de produzir enzimas ligninolíticas que podem ser isoladas em grande escala a fim de sua utilização para a degradação de poluentes orgânicos. Até onde temos conhecimento, os resultados deste estudo são o primeiro relato de produção de tais enzimas por fungos Diaporthe sp. e confirmam o potencial dos fungos endofíticos para fins biotecnológicos e de biorremediação através da prospecção de seus metabólitos.

Referências:

1. Bansal N, Kanwar SS. Peroxidase(s) in environment protection. Sci World J. 2013;2013.

2. Mir-Tutusaus JA, Parladé E, Llorca M, Villagrasa M, Barceló D, Rodriguez-Mozaz S, et al. Pharmaceuticals removal and microbial community assessment in a continuous fungal treatment of non-sterile real hospital wastewater after a coagulation-flocculation pretreatment. Water Res. 2017;116:65–75.

3. Ostrem Loss EM, Yu JH. Bioremediation and microbial metabolism of benzo(a)pyrene. Mol Microbiol. 2018;109(4):433–44.

4. Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proc Natl Acad Sci (2012);109(16):6241–6.

P018- HISTOLOGICAL LESIONS IN HPV16-TRANSGENIC MODEL: THE EFFECT OF HIDROETHANOLIC EXTRACT OF LAVANDULA PEDUNCULATA (MILL.) CAV.

Tiago Ferreira 1, Elisabete Nascimento-Gonçalves 1, Magda S.S.S. Moutinho 1, Maria João Pires 1, Margarida M.S.M. Bastos 2, Rui Medeiros, 3 António Nogueira 4, Lilian Barros 4, Isabel C.F.R. Ferreira 4, Rui M. Gil da Costa 5, Eduardo Rosa 1, Paula A. Oliveira 1
1 Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), Inov4Agro, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal. tiagoterras55@gmail.com
2 LEPABE—Laboratory for Process Engineering, Environment, Biotechnology and Energy, Faculty of Engineering, University of Porto, Porto, Portugal
3 Virology Service, Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto), Porto, Portugal
4 Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal
5 Postgraduate Programme in Adult Health (PPGSAD), Tumour and DNA Biobank, Federal University of Maranhão (UFMA), São Luís, Brazil

The K14HPV16 mice is a skin squamous carcinoma model that can be used to test antitumoral properties of several chemical and natural compounds1. Lavandula penduculata (Mill.) Cav., known as lavender, belongs to the Laminaceae family and has been used in traditional medicine as infusions to treat several conditions2. This work aimed to evaluate the effects of the hydroethanolic French lavender extract (FLE) in an HPV16-transgenic mice model lesions.

The extract was obtained through a maceration with ethanol/water (80:20, v/v) and its phenolic composition was determined by HPLC-DAD-ESI/MS. The FLE was dissolved in drinking water at 6.8 mg/10mL/animal and the animals were supplemented during 29 consecutive days. Twenty-eight male mice were randomly divided into four groups: (n=7/group): group I (HPV16- control); II (HPV16- FLE); III (HPV16+ control) and IV (HPV16+ FLE). After 29 days all animals were sacrificed by xylazine-ketamine overdose following cardiac puncture to obtain blood samples. Skin samples (chest and ear), kidney, liver and spleen were processed for histological analysis.

A total of thirteen compounds were identified in the hydroethanolic extract, being salvianolic acid B and rosmarinic acid the main molecules present. Moreover, the compounds revealed to be stable in the drinking water for 5 days. Histological analyses of skin samples from wild-type mice exposed (group II) and not exposed (group I) to FLE showed normal skin histology. Group III showed skin chest epidermal hyperplasia in 100% of the mice while group IV showed less epidermal hyperplasia frequency (66.6%) (p>0.05). Concerning to liver, kidney, and spleen lesions there are no differences between groups (p>0.05). The lavender extract did not prevent the progression of HPV-16 induced cutaneous lesions in this model. These data deserve more investigation to clarify the effect of lavender extract on HPV-16 lesions.

Acknowledgments:

This work was supported by European Investment Funds by FEDER/ COMPETE/POCI - Operational Competitiveness and Internationalization Program and National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the projects Project UIDB/04033/2020 (CITAB), and PhD fellowship SFRH/BD/136747/2018 and 2020.04789.BD. The authors are also grateful to FCT for financial support through national funds FCT/MCTES to CIMO (UIDB/00690/2020). L. Barros thanks FCT, P.I for her contract through the institutional scientific employment program. This work was also funded by the European Regional Development Fund (ERDF) through the Regional Operational Program North 2020, within the scope of Project GreenHealth - Norte-01-0145-FEDER-000042. The authors would like to thank BPGV for the samples provided.

References:

[1].Santos S., Ferreira T., Almeida J., Pires M.J., Colaço A., Lemos S., Gil da Costa R.M., Medeiros R., Bastos M.M.S.M., Neuparth M.J., Abreu H., Pereira R., Pacheco M., Gaivão I., Rosa E., Oliveira P.A. Marine Drugs, 11, (2019) 615.

[2].Lopes, C.; Pereira, E.; Soković, M.; Carvalho, A.; Barata, A.; Lopes, V.; Rocha, F.; Calhelha, R.; Barros, L.; Ferreira, I. Molecules, 23, (2018) 1037.

P019- CYTOTOXICITY AND MUTAGENICITY OF PARTICULATE MATTER FROM DOMESTIC ACTIVITIES

Daniela Figueiredo 1,2, Estela Vicente 2, Ana Vicente 2, Cátia Gonçalves 2, Isabel Lopes 1, Célia Alves 2, Helena Oliveira 1
1 Department of Biology and Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Aveiro, Portugal. d.figueiredo@ua.pt
2 Department of Environment and Planning and Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

Considerable amounts of particulate matter (PM) are produced indoors while people are cooking, cleaning, ironing or heating (Schiavon et al. 2015). Since people spend most of their time indoors, which promote the exposure to indoor air pollutants from a short distance, indoor PM is extremely important due to its possible side effects on health (Zhang et al. 2017). The organic constituents, in particular, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their derivatives, have been linked to carcinogenic and mutagenic effects (Kamal et al. 2015). The aim of this study was to evaluate the cytotoxic and mutagenic potential of particulate matter below 10 μm (PM10) obtained in the emissions from cooking and ironing activities.

Field measurements were conducted to collect PM10 samples released from frying horse mackerel, stuffing chicken, grilling and frying boneless pork strips, and from ironing at different conditions. The cytotoxicity of the PM10 total organic extracts was assessed using the WST-8 and the LDH assays. The A549 cell line, representative of the alveolar type II pneumocytes of the human lung, was used. The mutagenicity of the PM10-bound polycyclic aromatic hydrocarbons was screened through the Ames test, using S. typhimurium TA98 and TA100 strains with and without metabolic activation by the S9 fraction (rat liver microsomal fractions).

PM10 organic extracts from cooking and ironing showed a significant decrease ($p < 0.05$) of the metabolic activity of A549 cells. The highest significant decrease was observed for the PM10 organic extract from grilling boneless pork strips (decrease to 73 ± 5%) and from steam ironing-normal ventilation (decrease to 59 ± 3%), for cooking and ironing samples, respectively, at the highest concentration (150 µg mL-1). No significant differences were observed in the release of the cytoplasmic enzyme LDH into the culture supernatant, both for cooking and ironing PM10 organic extracts.

The results from the Ames test revealed that all the PAH samples presented ratios below 2 (twofold principle of mutagenicity confirmation) for the TA100 strain with and without metabolic activation. For the TA98 strain without metabolic activation, ratios above 2 were achieved for all the PAH cooking samples. However, when the S9 fraction was introduced into this strain, the mutagenic effect disappeared, suggesting that these samples lost their mutagenicity after being metabolised.

Altogether, our results show that PM10 organic extracts from cooking and ironing activities affect the metabolic activity of A549 cells but not their cell membrane integrity. Total PAHs from cooking samples presented mutagenic response only with strain TA98 in the absence of the S9 mixture, suggesting that the direct frameshift mutagenic activity was more prominent than base pair substitutions.

Acknowledgments: An acknowledgment is given to the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) for funding the PhD grant 2020.06414.BD . This work was supported by the project POCI-01-0145-FEDER-029574 (SOPRO) funded by FEDER, through COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI). The authors are also grateful for the financial support to CESAM (UIDB/50017/2020+UIDP/50017/2020), to FCT/MCTES through national funds, and the co-funding by the FEDER, within the PT2020 Partnership Agreement and Compete 2020.

References:

Kamal, Atif, Alessandra Cincinelli, Tania Martellini, and Riffat Naseem Malik. 2015. “A Review of PAH Exposure from the Combustion of Biomass Fuel and Their Less Surveyed Effect on the Blood Parameters.” Environmental Science and Pollution Research 22(6): 4076–98.

Schiavon, M. et al. 2015. “Domestic Activities and PM Generation: A Contribution to the Understanding of Indoor Sources of Air Pollution.” International Journal of Sustainable Development and Planning 10(3): 347–60.

Zhang, Nan et al. 2017. “Chemical Characteristic of PM2.5 Emission and Inhalational Carcinogenic Risk of Domestic Chinese Cooking.” Environmental Pollution 227: 24–30. http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.033.

P022- ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS USADOS NA AVALIAÇÃO DO ESTADO ECOLÓGICO DE RIBEIRAS DA BACIA DO GUADIANA

Adriana Catarino 1, Inês Martins 1, Sofia Fialho 1, Ana Lima 1, Patrícia Palma 1,2
1 Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Beja, Beja, Portugal. adri.catarino@hotmail.com
2 Instituto de Ciências da Terra (ICT), Universidade de Évora, Évora, Portugal

A perda de qualidade das águas superficiais com o respetivo decréscimo da biodiversidade é resultado da exposição a múltiplos estressores (por ex. alterações de padrões climáticos, aumento de substâncias perigosas, intensificação de atividades económicas e alterações de padrões demográficos). A gestão eficiente das massas de água depende do desenvolvimento e seleção de ferramentas sensíveis e facilmente aplicáveis que permitam classificar o estado químico e ecológico, priorizar as pressões e mitigar os seus impactos. Os regimes hidrológicos temporários permanecem entre os sistemas de água doce menos estudados, com limitações no que respeita à classificação do seu estado ecológico. A comunidade científica tem vindo a discutir a necessidade de desenvolver e padronizar diferentes tipos de indicadores biológicos, como bioindicadores ecotoxicológicos e biomarcadores, para complementar a avaliação ecológica por índices bióticos, para massas de água cujo classificação ainda não se encontra uniformizada. Assim, o objetivo deste trabalho foi a avaliação ecotoxicológica de água e sedimentos de ribeiras com regime hidrológico intermitente da Bacia do Guadiana e analisar a possível relação com o seu estado ecológico. As amostragens foram realizadas nas ribeiras de Álamos, Amieira e Zebronos meses de janeiro (jn), março (mr), maio (m), julho (jl), setembro (st) e novembro (nv) de 2018. Em ambas as matrizes foram utilizados bioensaios com organismos de diferentes níveis tróficos Vibrio fischeri; Thamnocephalus platyurus; Pseudokirchneriella subcapitata.

Após análise das amostras observou-se que o organismo mais sensível foi o *V. fischeri* detetando maior toxicidade nas águas da Ribeira do Zebro (13 % <30 min-EC50 <62 %) e nos sedimentos da Ribeira de Álamos (20 % <30 min-EC50 <51 %). Relativamente à microalga *P. subcapitada* esta apresenta uma diminuição da sua taxa de crescimento em todas as amostras analisadas, sendo esta diminuição mais acentuada nas amostras de sedimentos. Os resultados indicam que o estado ecológico de algumas ribeiras pode estar comprometido principalmente no período seco, altura em que o fluxo e o volume da massa de água diminuem evidenciando-se os efeitos resultantes da poluição das massas de água por águas residuais e pesticidas.

P023- DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES DE EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS PIRETRÓIDES ATRAVÉS DE EPIDEMIOLOGIA BASEADA EM ESGOTO

Lilian de Lima Feltraco Lizot 1, Marcos Frank Bastiani 1, Roberta Zilles Hahn 1, Rafael Linden 1 , Carlos Augusto do Nascimento 2
1 Universidade Feevale, Brasil. lilianlizot@feevale.br
2 Faculdades Integradas de Taquara, Brasil

Objetivo: Desenvolver e validar estratégias analíticas para quantificar biomarcadores de exposição a inseticidas piretróides em águas residuais usando amostradores integrativos químicos orgânicos polares (Polar Organic Chemical Integrative Samplers-POCIS).

Introdução: Os inseticidas piretróides apresentam baixa toxicidade, resistência no ambiente e boa eficácia contra insetos (1). A avaliação da exposição aos piretróides comumente é realizada por amostragem de alimentos ou através de amostras biológicas de indivíduos expostos, tal como sangue e urina (2,3). Os compostos trans-DCCA, cis-DCCA e 3-PBA são metabólitos humanos dos piretróides e são usados como biomarcadores de exposição. A epidemiologia baseada em esgoto (EBE) é uma ferramenta que fornece informações epidemiológicas através da análise de esgoto, onde avalia produtos do metabolismo endógeno e os relaciona com a exposição humana ao agente químico de interesse (3). Os POCIS são um exemplo de dispositivo de amostragem passiva e podem ser utilizados para amostragem de compostos polares e de baixa concentração em água (4,5,6,7).

Metodologia: As amostras foram coletadas em uma estação de tratamento de esgoto (ETE) que atende em torno de 5 mil habitantes. As substâncias investigadas são *trans*-DCCA, *cis*-DCCA e 3-PBA.

Para montagem do dispositivo POCIS foi utilizado membranas de poliestersulfona (PES), e sorbente Oasis® HLB. As coletas foram realizadas no período de fevereiro de 2020 a fevereiro de 2021. A amostragem foi realizada com 3 POCIS simultaneamente, os quais foram substituídos a cada 14 dias. Após a coleta, o sorbente é extraído com metanol, adicionado padrão interno (PI) (cis-DCCA-D3, trans-DCCA-D3 e 3-PBA6-C13). Os extratos foram submetidos a extração em fase sólida (EFS), empregando um cartucho de troca aniônica (Oasis® MAX). Os extratos foram analisados em um sistema LC-MS/MS, com ionização por electrospray em modo negativo.

Resultados: Após 24 coletas, os resultados obtidos se encontram nas faixas de 508,2-2.832,2 ng/mL para 3-PBA; 43,7-322,9 ng/mL para cis-DCCA e 121,9-450,8 ng/mL para trans-DCCA. Considerando estes resultados, é importante observar que as concentrações de cis-DCCA são mais baixas, o que pode ser um ponto positivo ao considerar a população estudada, uma vez que a forma cis apresenta maior toxicidade quando comparada à forma trans (SANTOS; AREAS; REYES, 2007). Cálculos retrospectivos da exposição da população atendida pela ETE aos inseticidas piretróides se encontram em andamento.

Conclusões: Um método sensível e específico para determinação de piretróides foi desenvolvido a partir de POCIS desenvolvido. Os compostos 3-PBA, cis-DCCA e trans-DCCA, metabólitos humanos de insecticidas piretróides, foram encontrados em todas as amostragens. Os resultados obtidos permitirão estimar o risco toxicológico da população exposta, quando da conclusão deste estudo.

Referências:

1. BARR, D. B. et al. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National health and nutrition examination survey 1999-2002. Environmental Health Perspectives, v. 118, n. 6, p. 742–748, 2010.
2. DEVAULT, D. A. et al. Exposure of an urban population to pesticides assessed by wastewater-based epidemiology in a Caribbean island. Science of the Total Environment, v. 644, p. 129–136, 2018.
3. ROUSIS, N. I. et al. Wastewater-based epidemiology to assess pan-European pesticide exposure. Water Research, v. 121, p. 270–279, 2017.
4. MAGI, E. et al. Combining passive sampling and tandem mass spectrometry for the determination of pharmaceuticals and other emerging pollutants in drinking water. Microchemical Journal, v. 136, p. 56–60, jan. 2018.
5. AISHA, A. A. et al. Monitoring of 45 pesticides in Lebanese surface water using Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS). Ocean Science Journal, v. 52, n. 3, p. 455–466, 2017.
6. YABUKI, Y. et al. Temperature dependence on the pesticide sampling rate of polar organic chemical integrative samplers (POCIS). Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, v. 80, n. 10, p. 2069–2075, 2016.
7. POULIER, G. et al. Estimates of pesticide concentrations and fluxes in two rivers of an extensive French multi-agricultural watershed: application of the passive sampling strategy. Environmental Science and Pollution Research, v. 22, n. 11, p. 8044–8057, 30 jun. 2015.

P024- PRUNUS AVIUM L. BY-PRODUCTS AS PHENOLIC-RICH SOURCES: CYTOTOXIC POTENTIAL AGAINST COLORECTAL CANCER CELLS

Ana R. Nunes1,2, Ana C. Gonçalves 1,3, Gilberto Alves 1, Amílcar Falcão 3,4, Cristina García-Viguera 5, Diego A. Moreno 5, Luís R. Silva 1
1 CICS–UBI – Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Covilhã, Portugal. araqueln@gmail.com
2 CNC – Centre for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal
3 CIBIT – Coimbra Institute for Biomedical Imaging and Translational Research, University of Coimbra, Coimbra, Portugal, Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Coimbra, Portugal
4 Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, Coimbra, Portugal
5 CEBAS-CSIC, Food Science and Technology Department, Phytochemistry and Healthy Foods Laboratory, Murcia, Spain

Prunus avium L., commonly known as sweet cherry, is a popular and very appreciated fruit and an important component of the human Mediterranean diet [1,2]. Cherry production generates annually considerable amounts of plant by-products with no commercial value. Although, some of them have been used since ancient times in folk medicine, little attention has been paid to their phenolic composition and possible biological properties [3]. Plants-based products are a relevant research area for new drug discovery, namely in cancer therapy. Plant phytochemicals, such as phenolic compounds, have been studied due to their anti-carcinogenic potential by interfering with the initiation, development, and progression of cancer by modulating several metabolic pathways [4]. Colorectal cancer is one of the most common types of human cancer and the fourth cause of malignant tumor-related deaths worldwide. In this context, the exploitation of bioactive compounds of cherry by-products and their incorporation in nutraceuticals and new drugs can be a very successful line of research. The present study was performed to characterize the phenolic profile and the cytotoxic activity of

P. avium leaves, stems, and flowers of Saco cultivar (Fundão region, Portugal. A total of 52 phenolic compounds were identified by HPLC-DAD-ESI/MSn, namely 1 hydroxybenzoic acid, 25 hydroxycinnamic acids, 10 flavonols, 5 flavan-3-ols, 7 flavanones, 1 flavanonol, 1 flavone, 1 anthocyanin, and 1 unknown compound [5]. 3-Caffeoylquinic acid *cis,* 5-caffeoylquinic acid *trans*, quercetin 3-*O*-rutinoside, and kaempferol-*O*-rutinoside-*O*-hexoside are among the major compounds [5]. Hydroethanolic extracts from cherry stems and flowers and aqueous infusion of flowers revealed cytotoxic activity against human epithelial colorectal adenocarcinoma (Caco-2) cells at concentrations above 200 µg/mL, inhibiting the growth of these cancer cells [5]. These findings allow a more detailed knowledge about the phenolic composition and biological properties of sweet cherry by-products. Moreover, this work highlights the importance of *P. avium* as an excellent source of phytochemicals which could be used for commercial applications, such as nutraceuticals or pharmaceutical ingredients for cancer treatment, contributing to the circular economy.

Acknowledgments:
This work was supported by the Portuguese Foundation for Science and Technology (SFRH/BD/139137/2018 to Ana R. Nunes and 2020.04947.BD to Ana C. Gonçalves). Part of this work was also supported by the Grant for Research Group of Excellence - Fundación Seneca, Murcia Regional Agency for Science and Technology, Project 19900/GERM/15 at CEBAS-CSIC.

References:

[1] Gonçalves, A.C.; Bento, C,.; Silva, B.; Simões, M.; Silva, L,R. Nutrients, Bioactive Compounds and Bioactivity: The Health Benefits of Sweet Cherries (Prunus avium L.). Curr. Nutr. Food Sci. 2018, 14, 1–20.

[2] Gonçalves, A.C.; Campos, G.; Alves, G.; García-Viguera, C.; Moreno, D.A.; Silva, L.R. Physical and phytochemical composition of 23 Portuguese sweet cherries as conditioned by variety (or genotype). Food Chem. 2021, 335, 127637.
[3] Jesus, F.; Gonçalves A.C.; Alves, G.; Silva, L.R. Exploring the phenolic profile, antioxidant, antidiabetic and anti-hemolytic potential of Prunus avium vegetal parts. Food. Res. Int. 2019, 116, 600–610.
[4] Gonçalves, A.; Rodrigues, M.; Santos, A.; Alves, G.; Silva, L.R. Antioxidant Status, Antidiabetic Properties and Effects on Caco-2 Cells of Colored and Non-Colored Enriched Extracts of Sweet Cherry Fruits. Nutrients, 2018, 10, 1688.
[5] Nunes, A.R; Gonçalves, A.C; Alves, G.; Falcão, A.; García-Viguera, C.; Moreno, D.A.; Silva, L.R. Valorisation of Prunus avium L. By-products: Phenolic Com-position and Effect on Caco-2 Cells Viability. Foods, 2021 (In press).

P025- T-2 TOXIN-INDUCED CYTOTOXICITY IN HEPG2 CELLS. PROTECTIVE EFFECT OF THE PHENOLIC FRACTION FROM RED BEANS

C. Martínez Alonso, M. Taroncher, P. Vila, M.J. Ruiz, Y. Rodríguez-Carrasco
Department of Food Chemistry and Toxicology. Av/ Vicent A. Estellés, s/n, 46100, Burjassot, Valencia. University of Valencia, Spain. yelko.rodriguez@uv.es

Beans have significant amounts of phenolic compounds, an important source of antioxidants in the diet. The color of the seeds of these legumes determines the phenolic content which, in general, is more significant in pigmented beans. From a nutritional point of view, it is recommended to consume legumes simultaneously with cereals or nuts to obtain a higher quality protein (protein supplementation effect). Despite those benefits, the consumption of cereals and nuts could increase the exposure of consumers to mycotoxins. In this work, the cytotoxic effects and the reactive oxygen species (ROS) produced by T-2 and a read bean extract in HepG2 cells were investigated. The cytoprotection study was carried out by combining the 1/8 diluted extract (the highest dilution that does not affect cell viability) with T-2 toxin at 7.5 nM (IC6.25), 15 nM (IC12.5) and 30 nM (IC25) in HepG2 cells for 24h. Results obtained from MTT assay demonstrated that T-2 reduces cellular proliferation on a concentration-dependent manner. The T-2 concentration of 7.5 and 15 nM did not show any effect on the cellular viability, whereas 30 nM of T-2 significantly reduced cellular proliferation. The lowest assayed T-2 concentration (7.5 nM) when combined with diluted 1:8 red bean extract, showed an increased cell viability (p<0.05) as observed in the results obtained from the MTT assay. Besides, this combination also showed a reduced ROS generation (p<0.05) after 120 min of exposure. Based on these results, the cytoprotective effect of the phenolic extract obtained from red beans were evidenced and therefore it is proposed to continue with studies of extracts of different types of legumes and their phenolic compounds.

Acknowledgement: Conselleria d'Innovació, Universitats, Ciència i Societat Digital. Proyecto: GV/2020/020 (Generalitat Valenciana).

References:

Yang, Q., Gan, R., Ge, Y., Zhang, D., & Corke, H. (2018). Polyphenols in Common Beans (Phaseolus vulgarisL.): Chemistry, Analysis, and Factors Affecting Composition. Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety, 17(6), 1518-1539. doi: 10.1111/1541-4337.12391.

Vila-Donat, P., Fernández-Blanco, C., Sagratini, G., Font, G., & Ruiz, M. (2015). Effects of soyasaponin I and soyasaponins-rich extract on the Alternariol-induced cytotoxicity on Caco-2 cells. Food And Chemical Toxicology, 77, 44-49. doi: 10.1016/j.fct.2014.12.016.

P026- CYTOTOXICITY OF PM10 FROM BRAKE WEAR AND TRUCK EXHAUST EMISSIONS TO LUNG CELLS

Marlene Soares 1, Daniela Figueiredo 1,2, Helena Oliveira 1, Célia Alves 2
1 Department of Biology and Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Aveiro, Portugal. marsalvadosoares@gmail.com
2 Department of Environment and Planning and Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

Particulate matter (PM) pollution is a global burden that affects the natural environment and living organisms. The main cause of this overwhelming pollution is traffic. PM is constituted by many compounds, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), which have been linked to carcinogenic and mutagenic effects (Alegbeleye et al, 2017). Traffic related PM can be divided into two types: exhaust and non-exhaust PM (Thorpe & Harrison, 2008). Exhaust particles result from incomplete fuel combustion and lubricant volatilization during the combusting process in the engines (Amato et al., 2014). Non-exhaust PM emissions are created through wear processes of tires, brakes, and other vehicle parts, or by resuspension of already present road wear particles. In particular, brake wear particles are formed by friction between brake pads and disks (Thorpe & Harrison, 2008). The aim of this study was to evaluate the potential cytotoxic effects of PAHs bound to brake wear particles (PM10), and exhaust emissions from trucks to human lung adenocarcinoma cell line (A549). PM10 samples from both the tailpipe of trucks and brake wear were collected in laboratories equipped with bench dynamometers. PM10 from brake wear were obtained under test cycles with various braking severities: 1) two types of conventional brake pads (low steel 1 and 2), and 2) two types of non-asbestos organic brake pads (NAO 1 and 2) with non-ferrous metals (Alves et al., 2021). Exhaust samples from three diesel and GTL powered heavy duty vehicles (Euro V and VI) were collected under different driving cycles.

The effects of PM10-bound PAH extracts at 100, 150 and 400 ng/mL on A549 cells viability were evaluated by the MTT assay (Zerboni, A. et al. , 2019), while the effects cell cycle dynamics were evaluated by flow cytometry (Darzynkiewicz et al., 2001) , both after 24h exposure. PM10-bound PAHs from brake wear (150 and 400 ng/mL) presented statistically significant decrease in cell viability to A549 cells when exposed to the samples PT1, PEN12, PEN14 and PEN17. Samples from vehicle exhaust (100 ng/mL) caused no significant reduced viability. There is no statistically significant change in the cell cycle in any sample exposure. Some PM10 by their selves do not cause a statistically significant damage to the cells but combined between them may be seriously hazardous.

Acknowledgments: An acknowledgment is given to the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) for funding the PhD grant 2020.06414.BD. This work was supported by the project POCI-01-0145-FEDER-029574 (SOPRO) funded by FEDER, through COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI), The authors are also grateful for the financial support to CESAM (UIDB/50017/2020+UIDP/50017/2020), to FCT/MCTES through national funds, and the co-funding by the FEDER, within the PT2020 Partnership Agreement and Compete 2020.

References:

Alegbeleye, O. O., Opeolu, B. O., & Jackson, V. A. (2017). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. Environmental Management, 60(4), 758–783. https://doi.org/10.1007/s00267-017-0896-2.

Alves, C., Evtyugina, M., Vicente, A., Conca, E., & Amato, F. (2021). Organic profiles of brake wear particles. Atmospheric Research, 255, 105557. https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2021.105557.

Amato, F., Cassee, F. R., Denier van der Gon, H. A. C., Gehrig, R., Gustafsson, M., Hafner, W., … Querol, X. (2014). Urban air quality: The challenge of traffic non-exhaust emissions. Journal of Hazardous Materials, 275, 31–36. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.04.053.

Darzynkiewicz, Z., Bedner, E., & Smolewski, P. (2001). Flow cytometry in analysis of cell cycle and apoptosis. Seminars in Hematology, 38(2), 179–193. https://doi.org/10.1016/S0037- 1963(01)90051-4 Thorpe, A., & Harrison, R. M. (2008). Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. Science of the Total Environment, 400(1–3), 270–282. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.007.

Zerboni, A., Bengalli, R., Baeri, G., Fiandra, L., Catelani, T., & Mantecca, P. (2019). Mixture Effects of Diesel Exhaust and Metal Oxide Nanoparticles in Human Lung A549 Cells. Nanomaterials, 9(9), 1302.

P027- DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA ESTIMAR O CONSUMO DE DROGAS ATRAVÉS DA ANÁLISE DE ESGOTO

Roberta Zilles Hahn 1, Lilian Lizot 1, Marcos Bastiani 1, Carlos Augusto do Nascimento 2, Rafael Linden 1
1 Universidade Feevale, Brasil. betahahn@feevale.br
2 Faculdades Integradas de Taquara, Brasil

Objetivos: Desenvolver uma metodologia para a quantificação de anfetamina (AMP), MDA, MDMA, metanfetamina, cocaína, benzoilecgonina (BZE), anidro éster metilecgonidina (AEME), cafeína, ácido 1,7-dimetilúrico, cotinina, hidroxicotinina e carboxi-THC em esgoto usando amostradores passivos do tipo POCIS e estimar o consumo das drogas avaliadas pela população atendida pela estação de tratamento de esgoto (ETE) onde foram coletadas as amostras.

Introdução: A epidemiologia baseada no esgoto (EBE) é uma estratégia analítica para estimar o consumo de drogas em uma população utilizando um procedimento de cálculo retroativo. A EBE baseia-se no princípio de que as drogas consumidas por indivíduos são excretadas, inalteradas ou como uma mistura de metabolitos, em redes de esgoto. Para o cálculo da estimativa de consumo é necessário obter uma amostra representativa e para isto uma das alternativas é a coleta de águas residuais com amostradores passivos.

Metodologia: As amostras foram coletadas em uma ETE que atende cerca de 5 mil habitantes de uma cidade do sul do Brasil. A amostragem foi realizada entre 22/01/20 e 09/12/20. Para a montagem do POCIS foram utilizadas membranas de poliestersulfona e o sorbente Oasis® HLB. Os POCIS foram substituídos à cada 14 dias e a análise foi realizada no mesmo dia da troca dos amostradores. O sorbente foi adicionado de padrões internos deuterados e extraído com metanol.

O extrato é submetido a extração em fase sólida em duas etapas empregando um cartucho de extração de troca catiônica e outro de troca aniônica. Os extratos foram analisados por cromatografia líquida associada a espectrometria de massas.

Resultados: Dos 12 compostos monitorados apenas a metanfetamina não foi detectada em nenhum período de amostragem.Também foi realizada uma triagem nas amostras coletadas com o POCIS com métodos de *screening* toxicológico e identificamos diversas classes de substâncias, como: antidepressivos, barbitúricos, antipsicóticos, antialérgicos e antiinflamatórios.
As maiores concentrações médias anuais no esgoto foram determinadas para BZE (362,5 ng L-1) seguida pelo carboxy-THC (50,9 ng L-1). Foi estimado o consumo de 4 drogas ilícitas, sendo o maior consumo *per capita* para o THC seguido pela cocaína, MDMA e AMP com estimativas de 414, 46, 6 e 1 mg dia-1 1.000 hab-1, respectivamente.
A cocaína apresentou o maior consumo no período de 28/10 a 09/12/20. A maconha apresentou picos de consumo em 14/10 - 28/10/20 e 25/11 - 09/12/20. Estes último também foi observado para AMP, além do pico em 04/03 - 18/03/20. Por sua vez, o consumo de *ecstasy* aumentou no mês de outubro, com picos de consumo em 28/10 - 11/11 e 25/11 - 09/12/20.

Conclusões: Concentrações de biomarcadores de uso de drogas em esgoto foram determinadas empregando o POCIS e forneceram uma estimativa do consumo de drogas ilícitas nessa área, representando uma alternativa de baixo custo e facilidade operacional para estudos de EBE.

Referências:

ALVAREZ, D. A. et al. Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. Environmental Toxicology and Chemistry, v. 23, n. 7, p. 1640–1648, 2004.

BAZ-LOMBA, J. A. et al. Passive sampling of wastewater as a tool for the long-term monitoring of community exposure: Illicit and prescription drug trends as a proof of concept. Water Research, v. 121, p. 221–230, 2017.
GRACIA-LOR, E. et al. Measuring biomarkers in wastewater as a new source of epidemiological information: Current state and future perspectives. Environment International, v. 99, p. 131–150, 2017.
HERNÁNDEZ, F. et al. Mass spectrometric strategies for the investigation of biomarkers of illicit drug use in wastewater. Mass Spectrometry Reviews, v. 37, n. 3, p. 258–280, 2018.
ORT, C. et al. Challenges of surveying wastewater drug loads of small populations and generalizable aspects on optimizing monitoring design. Addiction, v. 109, n. 3, p. 472–481, 2014.
VAN WEL, J. H. P. et al. A comparison between wastewater-based drug data and an illicit drug use survey in a selected community. International Journal of Drug Policy, v. 34, p. 20–26, 2016.
ZUCCATO, E. et al. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. Environmental Health Perspectives, v. 116, n. 8, p. 1027–1032, 2008.

P028- BIOMONITORIZACIÓN DE METALES EN PAREJAS MADRE-HIJO Y POSIBLES ASOCIACIONES CON MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

B. Dahiri 1, J. D. Mur 1, P. Carbonero-Aguilar 1, I. Martín 1, J. R. Aguilera 1, J. Boned 2, M. I. Aguilar 2, N. Florez 2, R. Carrillo 3, R. Ostos 2, L. Cerrillos 3, A. Fernández 4, J. Bautista 5, I. M. Moreno 1

1 Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, Universidad de Sevilla, España. boudahkha@gmail.com

2 Hospital Universitario Virgen del Valme, Sevilla, España

3 Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

4 Departmento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad de Sevilla, España

5 Departmento de Bioquimica y Biología Molecular, Universidad de Sevilla, España

Objetivos: El objetivo de este estudio fue biomonitorizar los niveles de metales (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Se, y Zn) en una cohorte de parejas madre-hijo en Sevilla (España) y las posibles relaciones con parámetros bioquímicos como los marcadores de estrés oxidativo (capacidad antioxidante total, peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa y catalasa) y niveles de vitaminas D y B.

I**ntroducción:** La población humana está constantemente expuesta a contaminantes ambientales, como metales pesados y metaloides, directamente relacionados con áreas industriales y mineras, de los cuales destacan el mercurio (Hg), el plomo (Pb), el arsénico (As) y el cadmio (Cd), considerados como los contaminantes principales por la Comisión Europea (2006). La biomonitorización nos permite identificar y eliminar las posibles fuentes de exposición, estudiando las posibles relaciones entre estos contaminantes y problemas de salud e identificando grupos de población vulnerables a estos contaminantes. Entre todos los grupos poblacionales, las mujeres embrazadas son uno de los grupos más vulnerables, ya que estas sustancias pueden cruzar la barrera placentaria, teniendo consecuencias en la salud del recién nacido.

Metodología: Las muestras de sangre materna y de cordón umbilical fueron tomadas durante el parto, previa firma del consentimiento informado y después de haber rellenado una encuesta epidemiológica. En estos resultados preliminares presentados, los participantes fueron agrupadas por áreas de residencia, edad y hábitos de vida (principalmente tabaquismo y hábitos alimentarios).

Resultados: Los resultados no mostraron ninguna correlación entre los grupos y los niveles de metales, excepto en el caso del Hg y el consumo de pescado, donde se observa una correlación positiva. Los niveles más altos de Hg detectados en las muestras de sangre materna estaban por encima de 5.8 µg/L, que es el valor umbral límite establecido por la OMS. Otro resultado destacable fue que aproximadamente el 40% de las participantes presentaron una hipovitaminosis D con niveles por debajo del valor normal de 50 nmol/L.

Agradecimientos: al Ministerio Español de Ciencia e Innovación por la financiación del proyecto PID2019-106442RB-C21.

P029- USE OF PULSED ELECTRIC FIELDS (PEF) TO MITIGATE ALTERNARIOL IN FRUIT JUICES

N. Pallarés 1, A. Sebastià 1, V. Martínez-Lucas 1, J. Tolosa 1, F. J. Barba 1, H. Berrada 1, E. Ferrer 1
1 Laboratory of Toxicology and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Burjassot 46100, Valencia, Spain. noelia.pallares@uv.es

The development of innovative food processing technologies, such as pulsed electric fields (PEF) has increased in the last years to answer the growing consumers' demand for fresh-like products. PEF technology involves the application of electrical treatments of different electric field strength (1–40 kV/cm) for short periods of time to a product placed between two electrodes. PEF constitute an effective tool for inactivating microorganisms at low temperatures and has been applied to sterilize foods such as vegetables, fruit juices, milk, and liquid eggs. Compared with thermal treatments, PEF-processed juices allowed for more retention of biologically active compounds such as vitamins, carotenoid, anthocyanins, lycopene, ascorbic acid and organoleptic characteristics (Knorr et al., 2011). More recently, PEF has also been proposed as useful tool for removing foods contaminants, such as pesticides and mycotoxins (Gavahian et al., 2020). Mycotoxins are toxic natural contaminants of food and feeds that are produced by various fungi from Aspergillus, Alternaria, Fusarium, and Penicillium generas. They are linked to some adverse effects such mutagenicity, carcinogenicity, teratogenicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, gastrointestinal toxicity, immunotoxicity, and neurotoxicity. Alternaria alternata is responsible of alternariol (AOH) production and is related with mutagenicity and genotoxicity (Marín et al., 2013). Natural occurrence of AOH has been reported in various fruits and fruits products (Guo et al., 2021; Pallarés et al., 2019). To the best of knowledge, the information available about the effect of PEF technology on mycotoxins reduction in foods is limited (Vijayalakshmi et al., 2017 and 2018).

The aim of the present study is to explore the application of PEF technology on AOH reduction in orange juice/milk and strawberry juice/milk beverages and to compare it with the effect of thermal treatment. For this purpose, juice samples were prepared in the laboratory and spiked with AOH at concentration of 100 µg/L, then samples were treated by PEF under conditions of field strength of 3 Kv /cm and specific energy of 500 KJ/kg. The effect of thermal treatment at 90 °C during 21 s has also been explored. After treatments, AOH was extracted employing dispersive liquid-liquid microextraction method (DLLME) and determined by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (HPLC-MS/ MS-IT). The results obtained revealed significant AOH reduction after PEF application, with reduction percentages up to 46% and 42% in orange juice/milk beverage and strawberry juice/milk beverage, respectively. Thermal treatment caused no AOH reduction in both juice models, being more effective PEF treatment in AOH mitigation.

Acknowledgements: This study was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness AGL 2016-77610R and by the pre-PhD program of University of Valencia "Atracció de Talent" (UV-INV-PREDOC16F1-384781). Moreover, the authors also thank Generalitat Valenciana for the financial support (IDIFEDER/2018/046 - Procesos innovadores de extracción y conservación: pulsos eléctricos y fluidos supercríticos) through the European Union ERDF funds (European Regional Development Fund).

References:

Gavahian, M., Pallares, N., Al Khawli, F., Ferrer, E., Barba, F. J. (2020). Trends in Food Science & Technology, 106, 209-2018. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.018.

Guo, W., Yang, J., Niu, X., Tangni, E.K., Zhao, Z., Han, Z. (2021). Analytical Methods, 13(2), 192-201. doi:10.1039/d0ay01787f.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., Schoessler, K. (2011). Annual review of food science and technology, 2, 203-235.
Marin, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V. (2013). Food and Chemical Toxicology, 60, 218-237.https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047.
Pallarés, N., Carballo, D., Ferrer, E., Fernández-Franzón, M., Berrada, H. (2019). Toxins, 11(12), 684. doi:10.3390/toxins11120684.
Vijayalakshmi, S., Nadanasabhapathi, S., Kumar, R., Kumar, S., Reddy, R. (2017). Journal of Food Processing and Preservation, 41, e13230, doi:10.1111/jfpp.13230.
Vijayalakshmi, S., Nadanasabhapathi, S., Kumar, R., Kumar, S.S. (2018). Journal of Food Science and Technology. 2018, 55, 868–878, doi:10.1007/s13197-017-2939-3.

P030- AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA ASSOCIADA A DESINFETANTES DE USO COMUM NO ORGANISMO TESTE DAPHNIA MAGNA

Márcio Barreto 1, Susana Coelho 2,3, M. Ramiro Pastorinho 4,5, Ana Catarina Sousa 1,3,5
1 Departamento de Biologia, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal
2 Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS), Universidade da Beira Interior, 6200-506 Covilhã, Portugal. marciorealbarreto@gmail.com
3 Núcleo de Estudos em Saúde Ambiental (NuESA), Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, 6200-506 Covilhã, Portugal
4 Departamento de Ciências Médicas e da Saúde, Escola de Saúde e Desenvolvimento Humano, Universidade de Évora, 7000-671, Évora, Portugal
5 Comprehensive Health Research Center (CHRC), Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal

A crise pandémica causada pela COVID-19 levou ao uso generalizado de produtos desinfetantes, incluindo desinfetantes de mãos de base hidroalcoólica. Face ao uso massivo é expectável que estes produtos acabem por ser introduzidos no meio ambiente, particularmente no ambiente aquático. Nesse sentido, é importante avaliar a potencial toxicidade que estes produtos apresentam para os organismos aquáticos. Este trabalho pretende avaliar a toxicidade aguda de um desinfetante de base hidroalcoólica para o organismo modelo Daphnia magna. Neonatos de D. magna foram expostos durante 48h a uma gama de concentrações crescentes de uma solução de desinfetante adquirida numa grande superfície comercial. Os ensaios foram realizados de acordo com o Protocolo Nº 202 da OECD (toxicidade aguda). Os resultados preliminares demostraram que esta solução apresenta elevada toxicidade, com mortalidades em todas as diluições inicialmente testadas (entre 90%-100%). Após otimização das condições do ensaio foi possível calcular o valor de EC50 (Concentração responsável por 50% de imobilização dos organismos).

Os resultados obtidos revelam elevada toxicidade deste desinfetante com valores de EC50 (24h)= 1.2% e EC50(48h)= 1.1%.
Os resultados sugerem uma elevada toxicidade destes desinfetantes, pelo que estudos adicionais são necessários para compreender a dimensão deste problema.

Referências:

Bownik, A., Ślaska, B., & Szabelak, A. (2018). Protective effects of compatible solute ectoine against ethanol-induced toxic alterations in Daphnia magna. Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology, 188(5), 779–791. https://doi.org/10.1007/s00360-018-1165-2.

Llamas-Dios, M. I., Vadillo, I., Jiménez-Gavilán, P., Candela, L., & Corada-Fernández, C. (2021). Assessment of a wide array of contaminants of emerging concern in a Mediterranean water basin (Guadalhorce river, Spain): Motivations for an improvement of water management and pollutants surveillance. Science of The Total Environment, 147822. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147822.

OECD. (2004). Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test. OECD Guideline for the Testing Og Chemicals, Section 2, April, 1–12. https://doi.org/10.1787/9789264069947-en.

P031- HUMAN BIOMONITORING OF SELECTED HAZARDOUS COMPOUNDS IN PORTUGAL: LESSONS LEARNED

Angelina Pena 1, Sofia C. Duarte 1,2, André M.P.T. Pereira 1, Liliana J.G. Silva 1, Célia S.M. Laranjeiro 1, Marta Oliveira 3, Simone Morais 3
1 REQUIMTE-LAQV, Laboratório de Bromatologia e Farmacognosia, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Polo III, Azinhaga de Stª Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal. s.cancela.duarte@gmail.com
2 Centro de Investigação Vasco da Gama, Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário de Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal.
3 REQUIMTE-LAQV, Instituto Superior de Engenharia do Instituto Politécnico do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida 431, 4249-015 Porto, Portugal

Human biomonitoring (HBM) data provide information on total exposure to contaminants and environmental/occupational pollutants regardless the route and sources of exposure This work reviews the published Portuguese HBM information concerning mycotoxins, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), metals, metalloids, and organochlorine pesticides (OCPs) concentrations detected in the biological fluids of different groups of the Portuguese population.

Among the several mycotoxins that were included in the studies, ochratoxin A (OTA) and Aflatoxins (AFs) were the predominant. A recent HBM study proved infant exposure to OTA and AFs (Silva et al., 2020). Indeed, some breastfeeding infants presented exposure to AFs that were five times greater than the proposed TDI (0.2 ng kg-1 b.w.; Kuiper-Goodman, 1990), being the mother's consumption of chocolate and rice, their lower instruction, and the period when samples were collected (summer and at the beginning of lactation) pointed as the potential determinants of exposure (Bogalho et al., 2018). Serum concentrations of OTA were increased in rural populations from the central region of Portugal (Lino et al., 2008).

Also, available evidence demonstrated high exposure to urinary biomarker in residents from Alentejo region (Duarte et al., 2015). Although to a lesser extent, contribution of occupational exposure to mycotoxins was also demonstrated in different working settings. Regarding exposure to PAHs, it was found that the main metabolites of low molecular weight compounds were the most abundant. Urinary 1-hydroxypyrene, the PAH biomarker of exposure to PAHs, was found at levels that were predominantly lower than the proposed benchmarks for non-smoking and non-occupationally exposed individuals (0.24 µmol mol-1 creatinine; Jongeneelen, 2001) and for occupationally exposed workers (ACGIH, 2010). Urinary 3-hydroxybenzo(a)pyrene, the biomarker of exposure to carcinogenic benzo(a)pyrene, was never detected among the Portuguese population. However, a recent survey (Ferreira et al., 2021) detected glyphosate in 95.1 % of the samples (1.77±0.86 µg/L), up to a maximum value of 4.35 µg/L. Glyphosate concentrations were higher in the urine of children aged 7 to 9 years, living near agricultural areas (<1 km), with a higher percentage of consumption of home-produced foods, and whose parents applied herbicides in the backyard. Risk assessment revealed an exposure representing 1 to 5.58% of the established ADI of glyphosate (0.5 mg/kg bw/day).

Regarding Portuguese exposure to metals and metalloids, increased levels of several elements (with high relevance for Cd and Pb) were mainly found in subjects living in the proximity of mines and volcanoes, but also in children near incinerators. Moreover, exposure to OCPs was also observed, including in the youngest; however, the data are still very scarce.

Acknowledgments:
This work was supported by the Fundação para a Ciência e Tecnologia under project UIDB/QUI/50006/2020.

References:

Silva, L.J.G., Macedo, L., Pereira, A.M.P.T., Duarte, S., Lino, C.M., Pena, A., 2020. Ochratoxin A and Portuguese children: Urine biomonitoring, intake estimation and risk assessment. Food Chem. Toxicol. 135, 110883. https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110883.

Kuiper-Goodman, T., 1990b. Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: Aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone, in: Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. https://doi.org/10.1139/y90-155

Bogalho, F., Duarte, S., Cardoso, M., Almeida, A., Cabeças, R., Lino, C., Pena, A., 2018. Exposure assessment of Portuguese infants to Aflatoxin M1 in breast milk and maternal social-demographical and food consumption determinants. Food Control 90, 140–145. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.043.

Lino, C.M., Baeta, M.L., Henri, M., Dinis, A.M.P., Pena, A.S., Silveira, M.I.N., 2008. Levels of ochratoxin A in serum from urban and rural Portuguese populations and estimation of exposure degree. Food Chem. Toxicol. 46, 879–885. https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.10.012.

Duarte, S.C., Lino, C.M., Pena, A., 2015. Ochratoxin A in food and urine: A nationwide Portuguese two-year study. World Mycotoxin J. 8. https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1707.

Ferreira, C., Duarte, S.C., Costa, E., Pereira, A.M.P.T., Silva, L.J.G., Almeida, A., Lino C., Pena, A. (2021). Urine biomonitoring of glyphosate in children: Exposure and risk assessment. Environmental Research (Volume 198, July 2021, 111294). https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111294.

P032- INTOXICACIÓN PEDIÁTRICA GRAVE POR TRAMADOL. IMPLICANCIAS DIAGNÓSTICAS

Carolina Juanena 1, Gabriela Peredo 1, Segio Machado 1, Alba Negrin 1, María José Castro 2 Eleuterio Umpierrez 2
1Departamento de Toxicología de la Facultad de Medicina. Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT). Udelar - Montevideo – Uruguay. Prof. Dra. Amalia Laborde. Av. Italia S/Nº - Hospital de Clínicas - Piso 7 – Tel: 24804000 Fax:24870300. carojuanena@hotmail.com; anegrin@hc.edu.uy
2Unidad de Medio Ambiente, Drogas y Doping, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química – UDELAR. Ramal Ruta 101 José D'Elía s/n y Ruta 8 – Pando. Tel: (+598) 22922021 int 129.

El tramadol, es un analgésico opioide que actúa como agonista en los receptores opioides μ, y en los noradrenérgicos y serotoninérgicos. Existe un aumento en la intoxicación en niños debido a mayor uso y disponibilidad. En pacientes pediátricos los síntomas de gravedad se relacionan con la dosis y se caracterizan por depresión respiratoria, coma y convulsiones. No es posible detectarlo en orina por inmunoensayo para opiáceos, siendo necesaria su confirmación mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrofotómetro de masas (CG/EM).
Se presenta la descripción de un caso clínico de un paciente pediátrico con intoxicación aguda grave por tramadol y su diagnóstico. Dicho caso clínico fue obtenido de la base de datos del Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT) de Uruguay.

Caso clínico: Sexo masculino, 3 años. Consulta por movimientos clónicos de mano izquierda y cianosis de cara. Al examen: escala de coma de Glasgow (GCS) 14, FC 119 cpm. Reitera a los pocos minutos movimientos tónicos clónicos de los 4 miembros, con pérdida de control esfinteriano. Se yugula crisis con Diazepam y carga de difenilhidantoína.

Posteriormente paciente soporoso, GCS 10, FC 90 cpm, miosis puntiforme bilateral con estridor. Se trasladó a Centro Hospitalario Pereira Rossell (CHPR). En periodo post ictal GCS 3, FR 27 rpm, tirajes altos y bajos, MAV disminuido bilateral CV: RR 98 cpm, PA 90/57mmHg. A pocos minutos del ingreso presentó movimientos tónicos de ambos MMSS, supraversión ocular, de 2 minutos de duración. Se indica Lorazepam i/v, yugulando crisis, y se realiza intubación orotraqueal (IOT). En domicilio hay disponibilidad de tramadol gotas, psicofármacos y analgésicos no esteroideos. Se solicita cromatografía gaseosa acoplada a espectrofotometría de masas (CG/EM) en orina, obteniéndose resultado al cuarto día del ingreso donde se detectó tramadol y sus metabolitos n-desmetilltramadol y o-desmetilltramadol, fenitoína y su metabolito hidroxyfenitoína. Se realiza diagnóstico de intoxicación aguda grave no intencional por tramadol. Alta a los 14 días con buena evolución. Se trató de una intoxicación aguda grave. Se confirmó el diagnóstico en base al resultado obtenido mediante CG/EM. Es de gran relevancia la confirmación cromatográfica para lograr un diagnóstico preciso e instaurar un tratamiento adecuado. Esta es una herramienta imprescindible en las intoxicaciones pediátricas para evitar estudios invasivos frente a la presencia de convulsiones sin causa.

P033- OCORRÊNCIA DE DESOXINIVALENOL (DON) EM TRIGO E FARINHA

E. B. C. Stefanon 1, F. P. Fontoura 1,2, C. A. A. Almeida 2, C. A. Mallmann 2
1 Laboratório de Farmacognosia, Botânica e Toxicologia, Curso de Farmácia, Universidade Franciscana (UFN), Santa Maria-RS, Brasil. elizastefa@hotmail.com
2 Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS, Brasil

Objectivos: Este trabalho pretende determinar o percentual de contaminação do trigo e da farinha por DON.

Introdução: Dentre as micotoxinas conhecidas, o desoxinivalenol (DON) é uma micotoxina do grupo dos tricotecenos, também é conhecida como vomitoxina1. A contaminação dos alimentos, tanto para alimentação humana quanto para animais, por fungos e micotoxinas é um dos principais fatores relacionados à segurança dos consumidores. O trigo representa a segunda maior cultura de grãos em produção no mundo. No Brasil são consumidos em média cerca de 10 milhões de toneladas de trigo por ano e a contaminação por DON ocorre predominantemente em grãos de trigo e seus derivados.

Material e Métodos: Analisou-se 81 amostras de trigo e 119 de farinhas de trigo, todas de diferentes lotes oriundos de vários Estados do Brasil. Pesou-se 3 g (± 0,1g) de amostra e colocou-se em tubo Falcon. Para efetuar a extração das análises de DON, acrescentou-se 24 mL da solução, metanol: água (70:30 v/v), homogeneizando-se durante 20 minutos em agitador.

A seguir o extrato foi filtrado em papel filtro qualitativo, destes retirou-se uma alíquota de 40 µL, acrescentando-se 955 µL de diluente água:metanol:acetato de amônio (95:900:5 v/v/v) e, 5 µL de padrão interno DOM-1 (Deepoxy-deoxynivalenol) com 1000 µg kg-1de concentração e submetidos à análise cromatográfica, composta de sistema de cromatografia líquida acoplado em espectrômetro de massas (LC-MS/MS 4000 API).

Resultados e Discussão: Verificou-se positividade para DON em amostras de trigo em 73 amostras e na farinha de trigo, 96 apresentaram-se positivas, sendo que o máximo de contaminação por DON encontrado no trigo foi de 5.400 µg kg-1 e na farinha 1.310 µg kg-1. Sendo o trigo um dos alimentos mais consumidos na dieta humana, cabe a preocupação em um monitoramento continuo destes alimentos propensos a estas contaminações, para prevenção de doenças humanas e animais. Uma nova regulamentação para os limites toleráveis de micotoxinas em alimentos a RDC 07 de 20112, determina limites máximos de diversas micotoxinas em uma grande variedade de gêneros alimentícios, segundo a RDC 7 de 2011 DON em trigo e seus derivados são 3000 µg kg-1 e 1250 µg kg-1, respectivamente a partir de 2014, neste estudo encontrou-se 10 amostras de trigo com valores de DON superior ao estabelecido pela legislação brasileira. Estes limites são comparáveis aos estabelecidos por outros países e recomendado pela Organização Mundial da Saúde e pela Organização para Alimentação e Agricultura.

Conclusão: Programas de fiscalização dos níveis de contaminação de alimentos por micotoxinas são essenciais para estabelecer prioridades em ações de vigilância sanitária. de monitoramento por parte da indústria alimentícia possibilitará que esta avalie a qualidade da matéria-prima utilizada na elaboração dos seus produtos.

Referências:

Agencia Nacional de Vigilância Nacional (ANVISA), RESOLUÇÃO - RDC N° 7, DE 18 DE FEVEREIRO DE 2011.

FERNANDES, et al,. Natural occurrence of nicalenol and mycotoxigenic potencial of Fusariun graminiarum strains in whet affcted by head blight in Argentina. Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v.39, n.1, 2008.

P034- DETERMINAÇÃO DE METABOLITOS DO ETANOL EM AMOSTRAS DE SANGUE SECO (DBS) NA AVALIAÇÃO DO PERFIL DE USO DE ÁLCOOL EM MOTORISTAS PROFISSIONAIS E SUA RELAÇÃO COM ANSIEDADE, DEPRESSÃO E ESTRESSE

Andiara Artmann, Mariane Tegner, Isabela Ott, Vinícius Barros, Marcos Bastiani, Marina Antunes, Rafael Linden
Universidade Feevale, RS-239, 2755 - Vila Nova, Novo Hamburgo, RS, Brasil.
andiara.carmo@hotmail.com

Objetivo: Avaliar o perfil de consumo de álcool de motoristas profissionais, através do biomarcador fosfatidieletanol e sua associação com ansiedade, depressão e estresse.

Introdução: O uso nocivo de etanol vem tornando-se um problema de saúde mundial, sendo um dos fatores de risco de maior impacto no mundo todo, estando associado a várias alterações psicológicas e cognitivas, e afetando o organismo nas ocorrências de diversas patologias, necessitando observar o risco que esse comportamento pode ocasionar. Dosagem bioquímica de enzimas são usadas para avaliar o consumo de álcool, entretanto possuem baixa especificidade e o uso de marcadores mais específicos como fosfatidiletanol (PEth) torna-se uma alternativa, já que é um marcador específico do consumo de etanol. Os motoristas profissionais podem estar mais vulneráveis ao consumo de álcool e outras substâncias psicoativas como válvula de escape para situações estressantes, jornadas de trabalhos exaustivas e insalubres, pressão e estresse no trânsito. Atualmente motoristas profissionais são testados para drogas e substâncias ilícitas em amostras de cabelo, entretanto não está previsto a dosagem de marcadores específicos para este composto. Nesse contexto, surge a necessidade de dosagem de biomarcadores específicos para avaliar a exposição crônica ao etanol.

Metodologia: O projeto foi aprovado pelo CEP sob o número 4.494.164. Foram recrutados indivíduos maiores de 21 anos de ambos os sexos, que deveriam obrigatoriamente exercer atividade como motorista de ônibus e/ou caminhoneiros das categorias de habilitação C, D. Os participantes assinaram o TCLE, responderam o questionário padronizado (AUDIT-C) e a escala de ansiedade, depressão e stress, para avaliação dos riscos à saúde relacionados ao perfil de trabalho, e coletado amostras de sangue seco em papel (DBS). As análises de PEth em DBS, foram feitas a partir do protocolo validado por Gerbase et al (2019) e tratou-se de uma extração com a precipitação de proteínas e injetados no LC-MS/MS da Thermo Fisher.

Resultados: Participaram 35 motoristas sendo 33 homens e 2 mulheres, média de 42 anos de idade. As concentrações de Peth variaram de 4,8 ng/mL a 363,1 ng/mL, com uma mediana de 39,95 ng/mL, sendo que 17,14% apresentaram níveis de PEth acima, do recomendado de 102 ng/mL, indicando um consumo excessivo de álcool.

Conclusões: Com as escalas, a frequência de estresse normal (74%), leve (20%) e moderado (3%), escala de ansiedade normal (86%), leve (9%) e grave (3%), e por último escala da depressão normal (88%), leve (3%) e moderado (6%). No questionário audit-c a mediana do grupo de baixo risco de consumo 36%, risco moderado 55% e alto risco 47%. Devido ao número limitado de participantes e por se tratar de um estudo piloto não foi possível associar os grupos das escalas com o questionário AUDIT-C, entretanto os dados mostram tendência, porém não foram estatisticamente significativos.

Referências:

ARAGÓN, C. et al. Alcohol y metabolismo humano. Adicciones, v. 14, n. 5, 2002.

GERBASE et al. Phosphatidylethanol dosing to detect alcohol misuse in trauma patients. Dissertação de mestrado. Universidade Feevale. 2019

GNANN, H. et al. Identification of 48 homologues of phosphatidylethanol in blood by LC-ESI-MS/MS. Analytical and bioanalytical chemistry, v. 396, n. 7, p. 2415-2423, 2010.

HARTMANN, S et al. BIOMARKER: Phosphatidylethanol as a sensitive and specific biomarker—comparison with gamma-glutamyl transpeptidase, mean corpuscular volume and carbohydrate-deficient transferrin. Addiction biology, v. 12, n. 1, p. 81-84, 2007.

PAIS-RIBEIRO, J L.; HONRADO, A; LEAL, I. Contribuição para o estudo da adaptação portuguesa das escalas de ansiedade, depressão e stress (EADS) de 21 itens de Lovibond e Lovibond. Psicologia, saúde & doenças, v. 5, n. 2, p. 229-239, 2004.

VIEIRA,J. Metabolismo do etanol. 2012. Tese de Doutorado.

VIEL G, et al. Phosphatidylethanol in blood as a marker of chronic alcohol use: a systematic re-view and meta-analysis. International Journal Molecular Sciences. Vol 13. p 14788–14812. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). AUDIT : the Alcohol Use Disorders Identification Test : guidelines for use in primary health care New York: WHO. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/audit-the-alcohol-use-disorders-identification-test-guidelines-for-use-in-primary-health-care> Acesso em: 12 abril 2020.

World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2018.

P035- DETERMINACIÓN DE ESTIMULANTES LIBRES POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA/ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC/MS): CASO CLÍNICO

M. J. Castro 1, F. Iglesias 1, E. Umpiérrez 1, C. Juanena 2, A. Negrin 2
1 Unidad de Medio Ambiente, Drogas y Doping-Polo Tecnológico de Pando Facultad de Química-Universidad de la República-Uruguay, Uruguay.
eleuterioumpierrez@gmail.com
2 Departamento de Toxicología. Facultad de Medicina. -Universidad de la República-Uruguay, Uruguay

Objetivo: Determinación de estimulantes libres en una muestra de orina por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC/MS).

Introducción: En Uruguay, en 2019 el 7,8% de 139.000 personas, había consumido cocaína alguna vez en su vida. La cocaína es una droga estimulante, que en muchas ocasiones es adulterada con sustancias como el levamisol, un antihelmíntico que causa necrosis en algunas zonas de la piel, y puede provocar neutropenia. En este trabajo, se presenta la determinación de estimulantes libres en una muestra de orina humana proveniente de una consulta al Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico (CIAT).

Métodos y Resultados: El ensayo solicitado era la determinación de estimulantes libres, en una muestra de orina de un paciente de sexo masculino, consumidor de cocaína, que ingresa a emergencia con cuadro de severa excitación psicomotriz y midriasis. Previamente, en domicilio movimientos anormales, hipertonía y afectación de conciencia que podría corresponder a una convulsión. En vista del antecedente clínico de consumo de cocaína, se procedió a la búsqueda de Estimulantes, Ecgonina metilester, Cocaína, Cocaetileno y Levamisol.

Para la misma, se realizaron dos técnicas de extracción líquido-líquido, con distintas condiciones de pH y solventes de extracción, y luego se analizó por GC/MS. Se detectó Ecgonina metilester, Cocaína y Levamisol en la muestra, y no se detectó otra sustancia estimulante común.

Conclusiones: Se confirmó la presencia de estimulantes libres en la muestra de orina, encontrándose específicamente Ecgonina metilester, Cocaína y Levamisol que genera un metabolito semejante al de las anfetaminas. Estos hallazgos son consistentes con las manifestaciones clínicas presentadas por el paciente.

P036- DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO POR DRIED SALIVA SPOTS PARA A MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DE ANTIDEPRESSIVOS EM FLUIDO ORAL

S. Soares 1,2, T. Rosado 1,2,3, S. Costa 4, M. Barroso 4, E. Gallardo 1,2
1 Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (CICS-UBI), Covilhã, Portugal. sofia_soares_26@hotmail.com
2 Laboratório de Fármaco-Toxicologia-UBIMedical, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal.
3 C4 - Cloud Computing Competence Centre, Universidade da Beira Interior, 6200-284 Covilhã, Portugal
4 Serviço de Química e Toxicologia Forenses, Instituto de Medicina Legal e Ciências Forenses-Delegação do Sul, Rua Manuel Bento de Sousa, Lisboa, Portugal

Objetivo: O presente trabalho descreve o desenvolvimento e otimização de um método analítico para a determinação de antidepressivos (fluoxetina, sertralina, paroxetina, citalopram, venlafaxina e metabolitos) em fluido oral (100 µL) com recurso a dried saliva spots (DSS) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa em tandem (GC-MS/MS).

Introdução: Entre 2013 e 2016, o consumo de antidepressivos duplicou em Portugal, sendo anualmente de cerca de 30 milhões de embalagens de medicamentos para depressão, ansiedade e outros problemas de saúde mental. Este fenómeno deu origem a vários alertas, tendo sido destacado no relatório de 2017 do Programa Nacional para a Saúde Mental, visto que Portugal apresenta uma das taxas de doenças mentais mais elevadas da Europa (1). A monitorização terapêutica é uma prática instituída para um pequeno número de fármacos que permite a individualização da terapêutica ao caracterizar as alterações farmacocinéticas observadas durante o curso do tratamento, bem como a adesão terapêutica. Dentro deste grupo de fármacos alvo de monitorização encontram-se os antidepressivos.

Métodos: Na separação dos compostos recorreu-se a um cromatógrafo de gases acoplado a um espetrómetro de massa triplo quadrupolo (MS/MS) modelo 7000B da Agilent Technologies. Foi utilizada uma coluna 5% de fenilmetilsiloxano (30m x 0,25 mm; 0,25 um i.d.) e os dados foram adquiridos no modo de multiple reaction monitoring. Todas as condições relativas ao MS/MS foram previamente otimizadas incluindo transições, energia de colisão e dwell time. Relativamente à otimização dos DDS, foram avaliados com recurso à ferramenta estatística Design of Experiments através do programa informático Minitab v17 os parâmetros tempo de secagem e de extração, solvente de extração e volume de solvente de extração.

Resultados: O volume de extração e o tempo de secagem da amostra revelaram-se como as condições mais importante na recuperação da maioria dos compostos e, para ambos os parâmetros, foi feito um estudo univariado (1-3 mL de solvente de extração e 1-12h de tempo de secagem). Foram observadas diferenças significativas entre 1 e 3 mL de volume de solvente de extração para o citalopram (p=0.014) e relativamente ao tempo de extração quando comparadas as áreas relativas obtidas com 1h e 6,5h (p=0.014), para cinco dos compostos em estudo. As condições ótimas foram 1 hora de secagem, 1 mL de metanol e 5 minutos de extração. Com estas condições, obtiveram-se recuperações aceitáveis (entrem13-46%). Apesar das baixas recuperações foram alcançados limites de deteção (LODs) de 10-75 ng/mL. Estes valores estão no intervalo terapêutico.

Conclusão: É de salientar que este é o primeiro trabalho que utiliza DSS como técnica de preparação de amostra para determinação de antidepressivos e metabolitos em amostras de fluido oral (100µL).

Agradecimentos: Este trabalho tem o apoio dos fundos FEDER através de POCI-COMPETE 2020-Operational Programme Competitiveness and Internationalisation in Axis I-Strengthening research, technological development and innovation (Project POCI-01-0145- FEDER-007491) e da FCT-Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projecto UID/Multi/00709/2020). S. Soares gostaria de agradecer à FCT a bolsa com a referência SFRH/BD/148753/2019. T. Rosado agradece ao Centro de Competências em Cloud Computing, através da bolsa de investigação (C4_WP2.6_M1—Bioinformatics; Operação UBIMEDICAL—CENTRO-01-0145-FEDER-000019—C4—Centro de Competências em Cloud Computing, Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

Referências:

(1) Soares, Sofia, Barroso, Mário and Gallardo, Eugenia. "A review of current bioanalytical approaches in sample pretreatment techniques for the determination of antidepressants in biological specimens" Reviews in Analytical Chemistry, vol. 40, no. 1, 2021, pp. 12-32. https://doi.org/10.1515/revac-2021-0124.

P037- DANO HEPÁTICO AGUDO EM DECORRÊNCIA DE INTOXICAÇÕES REPORTADAS PELO CIATOX-DF DE JANEIRO DE 2014 A DEZEMBRO DE 2018

Bárbara Ingrid Gomes 1, Andrea Magalhães 2, Mauricio de Mello 1
1Universidade de Brasília, Brasil. barbara_irg@hotmail.com
2Centro de Informação e Assistência Toxicológica do Distrito Federal, Brasil

Objetivos: Dadas as possibilidades que podem gerar dano hepático agudo, o presente estudo tem o intuito de analisar as notificações medicamentosas reportadas ao Centro de Informação e Assistência Toxicológica do Distrito Federal (CIATox-DF) com potencial relação a danos ao fígado.

Introdução: Estima-se que 50% dos medicamentos prescritos, dispensados e vendidos são utilizados incorretamente1 . Um dos órgãos mais acometidos pelo mau uso de medicamentos é o fígado, que pode sofrer diversos tipos de lesão. O termo Drug Induced Liver Disease (DILI) foi criado para representar a lesão hepática induzida por substâncias2. Já o dano hepático agudo (ALF - acute liver failure) se caracteriza pela perda repentina da função hepática em pessoas sem histórico de doenças hepáticas.

Metodologia: Coletou-se os dados de janeiro de 2014 a dezembro de 2018 do CIATox-DF, e elencou-se por prevalência de medicamentos. A partir disso realizou-se uma busca nas monografias dessas substâncias em bancos de dados com a finalidade de rastrear as substâncias com dados de literatura que embasassem eventual dano hepático.
Somente os casos advindos da rede pública da Secretaria de Saúde do Distrito Federal (SES-DF), com acesso ao sistema TrakCare® foram analisados.

A avaliação dos dados foi feita utilizando-se da Razão de Ritis (RR), Fator R e a escala RUCAM. Foram coletados os dados referentes a exames de função quando presentes.

Resultados: O campo amostral foi de 331 casos. A faixa etária mais presente foi entre 20 a 50 anos (37,8%). A Tentativa de Autoextermínio foi a circunstância mais presente (55,89%), estando presente em 87,04% das notificações com Razão de Ritis (RR)≤1 e em 71,70% dos casos com RUCAM≥3.

Dentre os 53 casos com RUCAM≥3, 40% (21) são comuns aos casos classificados como RR≤1. O parâmetro RR≤1 ocorreu em 16,31% dos casos analisados e foi associado ao sexo feminino, às idades entre 20 e 50 anos e às tentativas de autoextermínio, o que ocorreu semelhante para os com RUCAM≥3. Pelas duas avaliações, os medicamentos prevalentes foram: paracetamol, carbamazepina e ácido valpróico. Cerca de 59% (50) dos casos analisados com RUCAM (85) apresentaram média probabilidade de desenvolvimento de dano hepático.

Conclusão: No Brasil, 46,7% das intoxicações foram devido às tentativas de autoextermínio e estão ligadas ao gênero feminino e ao uso de medicamentos, o que ficou evidente no presente estudo.

As lesões induzidas por fármacos são associadas a uma RR≤15. No presente estudo, um terço dos pacientes com alteração nos exames apresentou esse perfil.. A relação do paracetamol, carbamazepina e ácido valpróico ao potencial hepatotóxico6 e de desenvolvimento de ALF e DILI7,8 reforçam seu aparecimento nos resultados deste estudo. Demonstrou-se que é possível correlacionar os casos de dano hepático mais graves após exposição a medicamentos hepatotóxicos, pela associação dos parâmetros Razão de Ritis e RUCAM.

Referências:

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Uso racional de medicamentos: temas selecionados / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p. : il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
2. Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Sociedade Brasileira de Endoscopia e Nutrição de São Paulo.-- Vol.1 (1982) -.-- São Paulo ISSN 0101-7772.
3. Lee, William M., Squires, Robert H. Jr., Nyberg, Scott L., Doo, Edward, Hoofnagle, Jay H. Acute Liver Failure: Summary of a Workshop Hepatology 2008;47:1401-1415. doi:10.1002/hep.22177.
4. Brasil, MS. Agência Saúde. Novos dados reforçam a importância da prevenção do suicídio. Victor Maciel. Publicado: Quinta, 20 de Setembro de 2018, 11h35 Última atualização em Terça, 25 de Setembro de 2018, 11h35. Acessado em: 04/08/2020. Disponível em: https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/44404-novos-dados-reforcam-a-importancia -da-prevencao-do-suicidio.
5. ZAMIN Jr., I., MATTOS, A. A. de, PERIN, C., & RAMOS, G. Z. (2002). A importância do índice AST/ALT no diagnóstico da esteatohepatite não-alcoólica. Arquivos de Gastroenterologia, 39(1), 22–26.
6. Khashab, M., Tector, A.J. & Kwo, P.Y. Epidemiology of acute liver failure. Curr Gastroenterol Rep 9, 66–73 (2007). https://doi.org/10.1007/s11894-008-0023-x
7. Chen M, Vijay V, Shi Q, Liu Z, Fang H, Tong W. FDA-approved drug labeling for the study of drug-induced liver injury. Drug Discov Today. 2011 Aug;16(15-16):697-703. doi:10.1016/j.drudis.2011.05.007.
8. Chen M, Suzuki A, Thakkar S, Yu K, Hu C, Tong W. DILIrank: the largest reference drug list ranked by the risk for developing drug-induced liver injury in humans. Drug Discov Today. 2016, 21(4): 648-653.

P038- DETERMINACIÓN POR GC/MS DE BENZOILECGONINA EN NIÑOS POR DEBAJO DEL CUT-OFF DE KITS INMUNOCROMATOGRAFICOS

L. Dellepiane 1, M. J. Castro 1, A. Negrín 2, M. Pan 2, A. Pascale 2, E. Umpiérrez 1
1Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay. ldellep@fq.edu.uy
2Departamento de Toxicología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue implementar un método para la detección y cuantificación de uno de los metabolitos de la cocaína, la benzoilecgonina en muestras de orina de pacientes pediátricos mediante dilución isotópica por cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas (GC/MS).

Introducción: El consumo de cocaína se encuentra estable en la población uruguaya, desde hace al menos 10 años, siendo la quinta droga más consumida en el país con una prevalencia de vida del 7,8% (aproximadamente 139.000 personas), luego del consumo de alcohol, tabaco, tranquilizantes y cannabis (VII Encuesta Nacional sobre consumo de drogas en población general, 2019). Los hijos de madres consumidoras de cocaína están expuestos en la etapa prenatal y durante la lactancia, y también presentan riesgo de ingesta no intencional por contacto directo con la sustancia. Los síntomas que pueden presentar son convulsiones, vómitos, irritabilidad, excitación psicomotriz y taquicardia entre otros. Los métodos de screening rápidos para detectar la presencia de la droga son test inmunocromatográficos que están fabricados principalmente para la población adulta, por lo tanto, los cut off que presentan, generalmente 300 ng/mL de benzoilecgonina, están por encima de los valores de intoxicación hallados en niños.

Métodos: Se analizaron 8 muestras de orina de pacientes de edades comprendidas entre 0 y 4 años que consultaron en el Departamento de Toxicología de la Facultad de Medicina. La orina fue aditivada con el estándar interno Benzoilecgonina-D3 a una concentración de 15 ng/mL. La técnica incluye una extracción y la posterior derivatización de las muestras previo a la inyección en el GC/MS.

Resultados: De las 8 muestras de orina analizadas, todas se encontraban por debajo del límite de corte de test inmunocromatográficos. Un total de 7 se encontraban por debajo del límite de confirmación propuesto para adultos (150 ng/mL) en un rango de concentraciones de 1 a 90 ng/mL.

Conclusiones: Se logró implementar un método de confirmación que permite detectar y cuantificar uno de los metabolitos de cocaína, en pacientes pediátricos con sospecha de intoxicación, que muchas veces presentan resultados negativos en test inmunocromatográficos debido a que presentan concentraciones por debajo de los límites de cortes utilizados para adultos. Los límites propuestos para la población adulta no deben ser aplicados a la población pediátrica.

P039- DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE METABÓLITOS DO ETANOL ETG E ETS EM SANGUE POR LC-MS/MS

Isabela Ritter Ott, Mariane Tegner, Rafael Linden, Fernando Gerbase, Maria Eduarda Krutzmann, Marina Venzon Antunes
Universidade Feevale, RS-239, 2755 - Vila Nova, Novo Hamburgo, RS, Brasil.
isaott@terra.com.br

Objetivos: Desenvolver e validar uma metodologia analítica para a quantificação dos níveis sanguíneos de etilglicuronídeo (EtG) e etilsulfato (EtS) por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas (UPLC-MS/MS).

Introdução: É reconhecida a associação entre consumo de álcool e a ocorrência de trauma. O etilglicuronídeo (EtG) e o etilsulfato (EtS) são metabólitos não oxidativos do etanol, cujas concentrações sanguíneas são indicativas de uso recente com janela de detecção mais ampla do que o etanol. Em virtude das baixas concentrações propõe-se o uso de sistema de UPLC-/MS/MS para quantificação dos metabólitos em sangue, sendo complementares na avaliação do abuso de álcool em diferentes cenários, como em vítimas de trauma.

Metodologia: Foi precipitado 25 µL do sangue com 100 µL de acetonitrila com 0,1% ácido fosfórico contendo padrão interno 0,5 ng/ml de EtG-D5 e EtS- D5. Os extratos foram injetados em UPLC-MS/MS Waters Class I TQD com coluna fluoro-fenil (2.1x100 mm, 1.7 µm) a 40 °C, com fase móvel A: água 0.1% ácido fórmico e B: acetonitrila, a 5% B até 0.5 minutos, alcançando 80% B em 9 min, retornando a 5% em 10 minutos. Foi realizada ionização em *electrospray* modo negativo, com transições para quantificação do EtG (m/z) 221 a 75 e EtS 125 a 80.1.

O método foi aplicado na determinação dos metabólitos em amostras de 23 vítimas de trauma com alcoolemia positiva medida por cromatografia a gás.

Resultados: O tempo de retenção do EtG e EtG-D5 foi 2.9 min e EtS e EtS-D5 5.53 min, com corrida de 13 min. As curvas foram lineares entre 0,1 e 18 µg/mL para EtG e 0,02 a 6,0 µg/mL para EtS (r=0.99, seguindo modelo ponderal 1/x). O método foi específico, sem picos interferentes em 10 amostras brancas de sangue. O método foi preciso CV < 15% e exato 85-115%, com efeito matriz compensado pelos padrões interno -12% a + 6.1%. As concentrações de EtG (0,4 a 29,6 µg/ml) e EtS (0,2 a 3,2 µg/ml) tiveram correlação significativa alcoolemia (r=0.752 e r=0.817, p<0,001).

Conclusões: Foi desenvolvido e validado um método sensível e específico para análise de EtG e EtS em LC-MS/MS. A preparação das amostras foi simples e eficiente, com alta recuperação. O método mostrou-se adequado desempenho analítico na avaliação de consumo de álcool em vítimas de trauma.

P040- DETERMINACIÓN DE 11-NOR-9-CARBOXI-THC POR DEBAJO DEL CUT-OFF DE KITS INMUNOCROMATOGRAFICOS EN NIÑOS POR GC/MS

L. Dellepiane 1, A. Negrín 2, A. Pascale 2, M. Pan 2, E. Umpiérrez 1
1Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay. ldellep@fq.edu.uy
2Departamento de Toxicología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue implementar un método para la detección y cuantificación del metabolito principal de Δ9-Tetrahidrocannabinol (THC), el 11-nor-9-carboxy-THC en muestras de orina de pacientes pediátricos mediante dilución isotópica por cromatografía gaseosa acoplada a un espectrómetro de masas (GC/MS).

Introducción: El consumo de marihuana es el más extendido en la población uruguaya luego del consumo de alcohol, tabaco y tranquilizantes. Los niños pequeños al cuidado de adultos consumidores son especialmente vulnerables a sufrir intoxicaciones con marihuana, presentando síntomas de hiporreactividad, hipotonía, somnolencia, entre otros. Los métodos de screening rápidos para detectar la presencia de la droga son test inmunocromatográficos que están fabricados principalmente para la población adulta, por lo tanto, los cut off que presentan, generalmente 50ng/mL de 11-nor-9-carboxy-THC, están por encima de los valores de intoxicación hallados en niños.

Métodos: Se analizaron 7 muestras de orina de pacientes de edades comprendidas entre 0 y 4 años que consultaron en el Departamento de Toxicología de la Facultad de Medicina. Se utilizaron controles de orina blanco (con declaración de consumo de marihuana negativo y verificadas por GC/MS) aditivadas con 11-nor-9-carboxy-THC a distintas concentraciones y se utilizó como estándar interno 11-nor-9-carboxy-THC-D9. La técnica incluye una hidrólisis, extracción y derivatización de las muestras previo a la inyección en el GC/MS.

Resultados: De las 7 muestras de orina analizadas, 3 se encontraban por debajo del límite de confirmación propuesto para adultos (15 ng/mL) y 4 por encima. El rango de concentraciones halladas va desde los 9 a los 277 ng/mL. Conclusiones: Se logró implementar un método que permite detectar y cuantificar el principal metabolito de la marihuana en pacientes pediátricos intoxicados que presentan muchas veces concentraciones por debajo de los límites de cortes utilizados para adultos.

Conclusiones: Se logró implementar un método que permite detectar y cuantificar el principal metabolito de la marihuana en pacientes pediátricos intoxicados que presentan muchas veces concentraciones por debajo de los límites de cortes utilizados para adultos.

P041- IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE EUGENIA UNIFLORA L. EM EXTRATO ETANÓLICO ATRAVÉS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (UV-VIS/DAD)

Natália de Quadros, Tatiana Furtado, Simone Verza
Universidade Feevale, RS-239, 2755 - Vila Nova, Novo Hamburgo, RS, Brasil.
natiquadros@hotmail.com

Objetivos: O objetivo deste trabalho foi caracterizar os principais constituintes fitoquímicos da Eugenia uniflora L. a partir de um extrato etanólico por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e avaliar a toxicidade aguda do extrato vegetal seco.

Introdução: A Eugenia uniflora L. é uma planta nativa do Brasil, popularmente conhecida como Pitangueira e suas folhas e frutos são muito utilizados na medicina pela população em geral, sendo a nona planta de interesse do Sistema Único de Saúde para o desenvolvimento de um produto fitoterápico. Na literatura, a presença de polifenóis, especialmente taninos, derivados do ácido gálico e elágico, e flavonoides são relatados como componentes químicos majoritários, e responsáveis pelas atividades biológicas. Metodologia: A coleta do material vegetal, foi realizada em agosto de 2020, na região do Vale dos Sinos, no Rio Grande do Sul, e corretamente identificada por um botânico, sendo uma exsicata do espécime depositada no herbário da Universidade Feevale. Após colhidas, as folhas foram submetidas a secagem em estufa de ar circulante (40°C), pulverizadas e foi realizada análise quanto do teor de umidade residual em balança de infravermelho. O extrato etanólico 60% (v/v) na proporção 1:10 droga:solvente, foi preparado utilizando-se de aquecimento a 50°C durante 30 minutos. A análise cromatográfica foi realizada com detector de Arranjo de Diodos (DAD).

Como fase estacionária utilizou-se uma coluna Zorbax Eclipe Plus C18®, mantida a 30°C durante as análises. As fases móveis constituíram-se da mistura de água e metanol 90:10 (v/v) para a fase A e 10:90 (v/v) a fase B, ambas acidificadas com TFA (0,05%), em sistema gradiente, com fluxo de eluição de 0,8 mL/min. O extrato seco foi produzido por spray-dryer e a toxicidade será avaliada utilizando-se a metodologia alternativa preconizada pela OECD.

Resultados: A umidade residual obtida foi de 6,49%, em conformidade com a Farmacopeia Brasileira. A análise cromatográfica permitiu a caracterização de miricitrina e ácido elágico, ambos presentes no extrato de E. uniflora preparado. Observou-se majoritariamente a presença de miricitrina, com comprimentos de onda máximos em 253 e 353 mAU e ácido elágico, com 252 e 366 mAU. Por outro lado, ácido gálico e quercetina não foram encontrados na amostra em questão, assim como em outros trabalhos.

Conclusão: Desta forma, sabendo-se que os constituintes fitoquímicos deste espécime são a miricitrina e o ácido elágico, estudos adicionais se fazem necessários para um maior detalhamento quanto a toxicidade aguda, e posteriormente para comprovação da atividade terapêutica da Eugenia uniflora.

Referências:

BEZERRA, Isabelle C.f. et al. Chromatographic profiles of extractives from leaves of Eugenia uniflora. Revista Brasileira de Farmacognosia, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 92-101, jan BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS: PNPIC-SUS. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Espécies vegetais. DAF/SCTIE/MS - RENISUS – 2009.. 2018a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissão da Farmacopeia Brasileira. Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira. 6ª edição. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015. Monografia da espécie Eugenia uniflora L. (Pitangueira). Organização: Ministério da Saúde e Anvisa, Brasília, 2015.

OECD- Organization for Economic Cooperation and Development. Guide 423- Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method, 2001.

RATTMANN, Yanna D. et al. Analysis of Flavonoids from Eugenia uniflora Leaves and Its Protective Effect against Murine Sepsis. Evidence-based Complementary And Alternative Medicine, [s.l.], v. 2012, p. 1-9, 2012.

P042- AFLATOXIN B1 IN BREAKFAST CEREALS: RISK ASSESSMENT OF DIFFERENT POPULATION GROUPS

Sara Cordeiro 1, Sofia C. Duarte 1,2, Anabela Almeida 3, André M. P. T. Pereira 1, Liliana J. G. Silva 1, and Angelina Pena 1
1REQUIMTE-LAQV, Laboratório de Bromatologia e Farmacognosia, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Polo III, Azinhaga de Stª Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal. s.cancela.duarte@gmail.com
2Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG)/ Departamento de Ciências Veterinárias, Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário de Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal
3CIBIT - Coimbra Institute for Biomedical Imaging and Translational Research, Universidade de Coimbra, 3000-548, Coimbra, Portugal

Mycotoxins are secondary metabolites of fungi, one of the most important ones are aflatoxins, due to their carcinogenic potential (Grupo 1 IARC). These are produced by fungi of the genus Aspergillus, namely by the species A. flavus and A. parasiticus. Among the many known Aflatoxins, Aflatoxin B1 (AFB1) is the most common and the most worrying for health, as it is considered hepatotoxic, hepatocarcinogenic, teratogenic and mutagenic. Among other foods, Aflatoxins are found in cereals, including products processed from cereals, such as breakfast cereals due to their high resistance to technological food processes. Since these products are consumed by all age groups, but mostly by children and adolescents, it is important to monitor these foods for mycotoxins.
The present study aimed to determine the occurrence of AFB1 in breakfast cereals in Portugal and, consequently, to assess the exposure of the portuguese population. To determine the AFB1 content in the samples, the RIDASCREEN® Aflatoxin B1 30/15 enzyme immunoassay (R-Biopharm, Germany) was used with a detection limit (LOD) of 1 µg/Kg. A deterministic exposure and risk assessment was carried out (Abrunhosa et al., 2014; EFSA, 2020).

The only positive sample (7,6 µg/Kg) included maize, besides four other cereals (whole and non-whole grain), namely wheat, oats, barley and rye. Comparing the results obtained with other studies at European level, the incidence was much lower, but the amount of AFB1 detected in the positive sample of this study is much higher (IBÁÑEZ-VEA et al., 2011; MARTINS et al., 2018; Assunção et al., 2018). The detected value is approximately four times higher than the maximum limit established in the EU (2 µg / kg) in the case of children is seventy-six times higher than the maximum limit established in the EU (0.10 µg / kg; EC, 2006).

The risk assessment considering the proposed TDI value (1ng/ kg bw/day), revealed a difference in the exposure pattern and estimated risk according to the age groups, varying between 098 ng/kg bw/day (for adults) and 6.03 ng/kg bw/day (for 3 year old infants). EDI for teenagers ranged between 2.81 and 3.15 ng/kg bw/day. In all age groups, the EDI equaled or surpassed the proposed TDI value. Nevertheless, children were the age group that assume the greatest concern in view of the results obtained.

Acknowledgments:

This work was supported by the Fundação para a Ciência e Tecnologia under project UIDB/QUI/50006/2020.

References:

ABRUNHOSA [et. al] (2014) - A Review of Mycotoxins in Food and Feed Products in Portugal and Estimation of Probable Daily Intakes “Food Science and Nutrition” 56:2, 249-265.

ASSUNÇÃO, R. [et. al] (2018) – Portuguese children dietary exposure to multiple mycotoxins – An overview of risk assessent under MYCOMIX project. “Food and Chemical Toxicology” 118 (2018) 399-408.

EFSA (2020) – Scientific Opinion - Risk assessment of aflatoxins in food "EFSA Journal 2020" 18 (3): 6040, 112 pp. [Acedido a 3de setembro de 2020]. Disponível na Internet: https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/6040

IBÁÑEZ-VEA, M. [et. al] (2011) – Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in breakfast cereals from spanish market. "Food Control" 22 (2011) 1949-1955.

MARTINS, C. [et. al] (2018) – Assessment of multiple mycotoxins in breakfast cereals available in the Portuguese market. "Food Chemistry" 239 (2018) 132-140.

REGULAMENTO (CE) Nº 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 – "EUR – Lex" Disponível em https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=celex:32006R1881.

P043- CARACTERIZACIÓN DE ACEITES DE CANNABIS DISPONIBLES EN EL MERCADO URUGUAYO

L. Dellepiane 1, E. Umpiérrez 1
1Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay. ldellep@fq.edu.uy

Objetivo: El presente trabajo tiene como objetivo determinar y cuantificar el contenido de Cannabidiol (CBD) y Δ9-Tetrahidrocannabinol (THC) de aceites de cannabis disponibles en el mercado.

Introducción: Con la aprobación de la Ley 19.172 en 2013 que regula la producción, distribución y venta del cannabis (psicoactivo y no psicoactivo) en Uruguay, el uso cannabis medicinal se ha extendido rápidamente. Del total de personas que declara estar en tratamiento con productos de cannabis medicinal, casi un 23% los adquiere en el exterior. Quienes acceden mediante productos elaborados en el país, la mitad lo hace a través de autocultivo (con y sin registro en el Instituto de Regulación y Control del Cannabis) y la otra mitad lo hace a través del suministro por otras personas (cultivadores, productores de extractos, etc.). Esto supone la existencia de un mercado clandestino de productos y también de un alto porcentaje de personas que recurre al autocultivo para hacer uso del cannabis con fines medicinales, convirtiendo su consumo en una práctica peligrosa ya que se desconoce el impacto en la salud de los consumidores.

Metodología: Se analizaron un total de 10 aceites de cannabis, 2 comprados en farmacias y 8 provenientes de distintos usuarios, mediante Cromatografía Liquida de Alta Resolución acoplada a un detector de Arreglo de Diodos (HPLC/DAD).

Resultados: Los resultados obtenidos indican que mientras los aceites comprados en farmacias cumplen con las especificaciones de concentración declaradas, los obtenidos por otros medios no lo hacen. De los 8 aceites analizados provenientes del mercado informal, sólo 3 contienen CBD pero sólo uno de ellos en una concentración considerada terapéutica. Además, se encontró que los 8 aceites presentaban THC, 2 de ellos por encima de 0,3%.

Conclusiones: Se confirma la existencia de un mercado informal con productos peligrosos y sin la finalidad deseada ya que carecen de CBD, principal cannabinoide responsable de las propiedades terapéuticas, y sí presentan THC que es el componente psicoactivo principal del cannabis. A su vez, se reafirma la necesidad de mejorar las campañas publicitarias alertando a la población de los posibles riesgos dde consumir este tipo de productos adquiridos en el mercado no formal.

P044- EVALUACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD Y RIESGO PARA LA SALUD DEL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN 14 DE LAS VARIEDADES DE ARROZ MÁS CONSUMIDAS EN ESPAÑA

J.R. Aguilera-Velázquez1, P. Carbonero-Aguilar 2, B. Dahiri 2, I. Martín-Carrasco 2, J. Martín-Reina 2, J. Mur 2, J.D. Bautista 1, I. Moreno 2

1Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Sevilla, España. jraguilera@us.es

2Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, Universidad de Sevilla, España

Objetivo: El objetivo del estudio es analizar el contenido y la bioaccesibilidad de elementos metálicos metaloides y no metales (Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn, As y Se) en 14 de las variedades de arroz cocinados más consumidos en España, así como evaluar el riesgo para la salud de dichos metales en relación con su bioaccesibilidad y su ingesta diaria.

Introducción: La globalización ha llevado a que los productos consumidos en un país puedan provenir de cualquier otra parte del mundo. En España, una parte del arroz consumido es importada de terceros países, muchos de los cuales tienen tasas elevadas de contaminación ambiental (1). Por ello, creemos necesario llevar a cabo una evaluación del contenido metálico, especialmente de metales pesados. La biodispoibilidad de los metales depende en gran medida del proceso de cocinado y del proceso digestivo (2). Los arroces con menor grado de digestibilidad podrían liberar menor cantidad de metales disminuyendo su absorción, así como reducir el aporte calórico. Una exposición crónica por un consumo habitual de metales pesados a través de la dieta está relacionado con la aparición de graves enfermedades (3).

Metodología: Se han analizados distintas variedades de arroz largo y redondo tanto producidas en España (Hispamar, Perlado, Piñana, Thaiperla, Puntal, J Sendra y Marisma) como importadas de Argentina, Grecia, Vietnam, Italia, y la India. Todas las muestras fueron lavadas y/o cocinadas siguiendo la metodología de Shafari et al. (4). El arroz fue digerido mediante digestión estandarizada descrita por Brodkorb et al., (5). Los metales se determinaron por Espectrometría Masas con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-MS) y el control de la calidad de los datos por el método de Choi et al., (6).

Resultados: Los resultados muestran diferencias significativas en la digestibilidad de las variedades de arroz estudiadas, siendo la más digerible la variedad Thaiperla con un 77.8% de fracción digerible y la menos digerible Guadiamar con un 22.4%. Con respecto a la biodisponibilidad de metales ninguno de los estudios sobrepasa los límites establecidos por la Agencia Española para la Seguridad Alimentaria Nacional (AESAN) atendiendo a su ingesta media diaria. No hubo diferencias significativas en los metales encontrados en relación con su origen.

Conclusiones: Los metales encontrados en arroces más consumidos en España con alto contenido en fracción no digerible tienen un menor grado de bioaccesibilidad que aquellos que se digieren en mayor proporción. Aquellos arroces con mayor porcentaje de fracción no digerible podrían considerarse más saludables por su menor aporte en metales y calorías.

Agradecimientos:
Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-106442RB-C21).

Referencias Bibliográficas:

1. Ministerio de Agricultura, P. y A. Informe del Consumo Alimentario en España 2018. Gob. España 538 (2018).
2. Liu, K., Zheng, J. & Chen, F. Effect of domestic cooking on rice protein digestibility. Food Sci. Nutr. 7, 608–616 (2019).
3. Zulkafflee, N. S. et al. Heavy metal in paddy soil and its bioavailability in rice using in vitro digestion model for health risk assessment. Int. J. Environ. Res. Public Health 16, (2019).
4. Sharafi, K. et al. Advantages and disadvantages of different pre-cooking and cooking methods in removal of essential and toxic metals from various rice types- human health risk assessment in Tehran households, Iran. Ecotoxicol. Environ. Saf. 175, 128–137 (2019).
5. Brodkorb, A. et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nat. Protoc. 14, 991–1014 (2019).
6. Choi, S. H. et al. Analysis of arsenic in rice grains using ICP-MS and fs LA-ICP-MS. J. Anal. At. Spectrom. 29, 1233–1237 (2014).

P045- PERCEÇÃO DE SEGURANÇA E PRÁTICAS DE UTILIZAÇÃO DOS MATERIAIS USADOS PARA CONFEÇÃO E ARMAZENAMENTO DE ALIMENTOS

Joana Moura, Cíntia Pêgo, Ana Sofia Fernandes
CBIOS, Universidade Lusófona's Research Center for Biosciences & Health Technologies, Lisboa, Portugal. joanagmoura@gmail.com

Objetivos: Caracterizar as práticas de utilização e a perceção de segurança dos consumidores relativamente aos materiais utilizados em recipientes para cozinhar e reservar alimentos (cookware).

Introdução: Desde os tempos mais remotos, que o Homem procura materiais adequados para confecionar e guardar os alimentos. Materiais para Contacto com Alimentos (MCA), são aqueles que se destinam a estar em contacto com estes, durante a sua produção, manipulação e armazenamento [1]. Apesar da avaliação de segurança necessária para a aprovação dos MCA, estes podem constituir uma fonte de exposição a diversas substâncias tóxicas que podem migrar para os alimentos. Esta migração pode ser mais relevante em condições de temperatura elevada e alimentos ácidos, bem como por práticas de utilização do cookware inadequadas [2].

Metodologia: Foi construído um questionário online (Google forms), com o objetivo de caracterizar: i) dados sociodemográficos e estilo de vida; ii) critérios de escolha e práticas de utilização de cookware; iii) perceção de segurança dos materiais mais usados em cookware; iv) grau de esclarecimento e interesse no tema. Analisaram-se as respostas de 1.179 adultos portugueses, sendo este um estudo de pesquisa observacional, quantitativa e transversal.

Resultados: A segurança foi considerada o fator mais importante na escolha de cookware, sendo que o inox e o vidro foram os materiais associados a uma melhor perceção de segurança. Os materiais mais frequentemente utilizados para confecionar alimentos foram o inox e os antiaderentes, sendo o vidro e as caixas de plástico os mais usados para armazenar alimentos. Em relação à simbologia de MCA, verificou-se existir um grande desconhecimento. A grande maioria dos inquiridos considera haver risco de contaminação dos alimentos através de utensílios utilizados, nomeadamente por migração de partículas, metais e elementos cancerígenos. Os resultados foram analisados por faixa etária e em função da perceção da dieta. Os indivíduos na faixa etária superior, realizam maior manutenção do cookware e detêm maior conhecimento sobre o tema. Verificou-se que o grupo que considera que "faz uma alimentação saudável" dá maior importância à segurança do material, à sustentabilidade, às questões ambientais e utiliza com maior frequência materiais considerados mais seguros. Este grupo, realiza maior manutenção do cookware, dá maior atenção aos símbolos dos MCA e demonstra maior conhecimento sobre a simbologia. 97% dos inquiridos afirmaram que gostariam de estar mais esclarecidos sobre o tema.

Conclusões: Conclui-se que, apesar da segurança ser um aspeto muito valorizado, existe uma enorme falta de informação sobre a funcionalidade e segurança dos MCA usados para cozinhar e guardar alimentos. Há assim, uma necessidade premente de esclarecimento e criação de materiais informativos, acessíveis ao público em geral de forma a promover literacia sobre o tema.

Referências:

1. EFSA. (2015). Materiais que entram em contacto com os alimentos.
2. Koontz, J. L., Liggans, G. L., & Redan, B. W. (2020). Temperature and pH affect copper release kinetics from copper metal foil and commercial copperware to food simulants. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 37(3), 465–477. https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1704447.

P046- THE NEUROTOXICITY OF DOXORUBICIN IN THE BRAIN OF ADULT CD-1 MICE

Ana Dias-Carvalho 1, Mariana Ferreira 1,2, Ana Olívia Fernandes 1,3, Ana Reis-Mendes1, Margarida Duarte-Araújo 4,5, Rita Ferreira 6, Félix Carvalho 1, João Paulo Capela 1,7, Susana I. Sá 3,8, and Vera Marisa Costa 1

1UCIBIO, REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Department of Biological Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal._arcdc97@gmail.com

2LAQV/REQUIMTE, Chemistry Department, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

3Faculty of Medicine, Department of Biomedicine, Unit of Anatomy, University of Porto, Porto, Portugal

4LAQV/REQUIMTE, University of Porto, Porto, Portugal

5Department of Imuno-Physiology and Pharmacology, Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar, University of Porto, Portugal

6LAQV/REQUIMTE, Chemistry Department, University of Aveiro, Aveiro, Portugal

7FP-ENAS (Unidade de Investigação UFP em Energia, Ambiente e Saúde), CEBIMED (Centro de Estudos em Biomedicina), Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal

8Faculty of Medicine, Center for Health Technology and Services Research (CINTESIS), University of Porto, Porto, Portugal

Our work aimed to evaluate the neurotoxicity of a clinically relevant cumulative dose of DOX in the brain of adult mice, mainly focusing on the long-term neurotoxic effects. Cognitive deficits have been observed on chemotherapy-treated patients, ‘chemobrain’ being the designation given to the long-term cognitive dysfunction caused by systemic chemotherapy. Doxorubicin (DOX) is a topoisomerase II inhibitor used to treat a wide range of tumors, known to induce chemobrain effects through hitherto poorly understood mechanisms. Three-month-old CD-1 male mice received bi-weekly intraperitoneal administrations of DOX for 3 weeks, until they attained a total cumulative dose of 9 mg/kg.

Animals were euthanized one week after the last administration (short-term) or 5 months (long-term). In both the short- and long-term groups, coronal sections of fixed brains were used for immunofluorescent detection of proteins of neuronal damage in pre-frontal cortex (PFC) and hippocampal formation (HF). Moreover, in the HF of the short-term group, the volume and the total number of glial fibrillary acid protein (GFAP)-immunoreactive (ir) astrocytes were determined. In the right-brain hemisphere of the short-term group, the expression of ATP synthase β, manganese superoxide dismutase (MnSOD), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), nuclear factor kappa B subunit p50 (NF-κB) and glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) was determined through western blot (WB). Regarding the apoptotic markers, in the short-term study, Bax increased in the PFC and CA3 region of DOX-9 whereas in the long-term Bax expression increased in the CA1 and CA3 regions and p53 increased in the dentate gyrus and CA3 region. The total estimated GFAP-ir astrocytes also increased with DOX in the CA3 region, while decreasing in the dentate gyrus region of the HF. In the short-term study, so far, there were no meaningful changes in the biomarkers analyzed through WB. In summary, DOX significantly increased apoptotic markers (Bax and p53) in the adult mice brain and those changes persisted even 5 months after treatment. These changes could be involved in the cognitive impairments detected in treated patients.

Acknowledgments:
RM and VMC acknowledge FCT for their grants: SFRH/BD/129359/2017 and SFRH/BPD/110001/2015, respectively, being the later funded by national funds through FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., under the Norma Transitória – DL57/2016/CP1334/CT0006. The work was supported by UID/MULTI/04378/2019 with funding from FCT/MCTES through national funds.

P047- EVALUACIÓN DEL RIESGO TOXICOLÓGICO POR LA INGESTA DE FLUORURO EN LAS AGUAS DE CONSUMO HUMANO DE LA ISLA DE TENERIFE

D. Niebla Canelo 1, S. Paz Montelongo 2, C. Rubio Armendáriz 2, A. J. Gutiérrez Fernández 2, A. Hardisson 2, M. J. Sánchez Sánchez 3, T. M. Borges Miquel 3
1Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna. España. alu0100798203@ull.edu.es
2Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología, Área de Toxicología, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna, España
3Departamento Química, Área Química Analítica, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna, España

En las Islas Canarias, especialmente en la zona norte de Tenerife, es importante llevar a cabo una monitorización de los niveles de fluoruro (F-) en las aguas de consumo humano, ya que, al tratarse de una región volcánica, los suelos de las galerías que abastecen la isla de Tenerife (especialmente la galería de Vergara situada en las proximidades del volcán activo del Teide), son ricos en minerales que contienen fluoruros. Esto hace que las aguas de abastecimiento de la isla contengan niveles destacables de este ion.

El fluoruro es una especie química que puede tener efectos beneficiosos o tóxicos para el ser humano dependiendo de la concentración. En concentraciones comprendidas entre 0,5-1,5 ppm el fluoruro reduce la aparición de la caries dental, protegiendo el esmalte dental por la formación de fluorapatita (mayor resistencia al ataque ácido de las bacterias) a partir de la hidroxiapatita. Sin embargo, en concentraciones superiores a 1,5 ppm existe el riesgo de padecer fluorosis dental (moteado de los dientes, característico en algunas zonas del norte de la isla) y, cuando las concentraciones son superiores a 3,0 ppm puede provocar la aparición de fluorosis ósea.

Se determinó la concentración de fluoruro en 19 puntos de la isla de Tenerife (zona norte, sur y metropolitana) mediante potenciometría de ion selectivo de fluoruro, previa realización de una curva de calibrado semilogarítmica. Se registraron concentraciones de 0,06 ppm (norte y sur) y 0,81 ppm (zona metropolitana y norte). Las concentraciones registradas fueron menores que el nivel máximo permitido en la legislación (1,5 ppm), siendo aptas para el consumo.

Un consumo de 2 L/día proporciona unas ingestas diarias estimadas (IDE) de 0,12 – 1,62 mg/día. Tras realizar la evaluación de la ingesta de fluoruro en los distintos grupos poblacionales, se concluyó que para niños (0-12 meses y 1-3 años) sí existe riesgo por ingesta elevada de fluoruro pues se supera la ingesta diaria admisible (IDA). El resto de los grupos de población (adolescentes, adultos y ancianos) no están en riesgo por ingesta de fluoruro procedente del agua de abastecimiento.

Referencias Bibliográficas:

Real Decreto 140/2003

Biological Trace Element Research, 2021, "en prensa", https://doi.org/10.1007/s12011-020-02569-y

P048 - MONITORING THE DISTRIBUTION OF DOA IN LONGITUDINAL SECTIONED HAIR SAMPLES BY MALDI-MS IMAGING

DBryn Flinders, Vanessa Arantes Figueira, Sara Mandić, Sean Jensen, Ana Miguel Fonseca Pego
Hair Diagnostix, Dutch Screening Group, Gaetano Martinolaan 63A, 6229 GS, Maastricht, The Netherlands. anamiguel14@hotmail.com

Aims: Hair testing is a powerful tool routinely used for the detection of drugs of abuse in toxicology and forensic applications. The analysis of hair is highly advantageous as it can provide prolonged detectability versus that in biological fluids and chronological information about drug intake based on the average growth of hair. However, current methodology routinely involves complex and time-consuming sample preparation followed by gas or liquid chromatography coupled with mass spectrometry. Mass spectrometry imaging has been employed to monitor the distribution of drugs of abuse and their metabolites throughout single longitudinal sectioned hair samples.

Methodology: Hair samples from drug free volunteers, as well as cocaine and ketamine users were first washed with dichloromethane. Longitudinal sections of hair samples were then prepared with an in-house built device before mounting onto a conductive glass slide. Hair samples were then coated with CHCA (10 mg/mL in 50% ACN with 0.2% TFA) and then analyzed using a Bruker rapifleX (BrukerDaltonics, Bremen, Germany).

Results: Scanning electron microscopy was performed to assess the quality of the longitudinal sections of hair samples. The images obtained from the sectioned hair sample showed the exposed medulla, cortex and a portion of the cuticle observed as a narrow layer surrounding the cortex. Longitudinally sections of hair samples from confirmed cocaine and ketamine users were analyzed by MALDI-MS imaging. The presence of ketamine at m/z 238.10 was found in the ketamine user but no metabolites were detected. In contrast, the hair from the cocaine user showed the presence of cocaine at m/z 304.15. Two metabolites were also present, benzoylecgonine the major metabolite of cocaine at m/z 290.16 and cocaethylene a metabolite formed in the liver by the simultaneous consumption of cocaine and alcohol at m/z 318.18.

Conclusions: SEM imaging of longitudinally sectioned hair samples revealed the internal structure of the hair where the drug reported to be bound. MALDI-MS imaging revealed a broad distribution of ketamine and cocaine/metabolites throughout the longitudinal sectioned hair samples.

P049- N-METHYL-N-NITROSOUREA TOXICOLOGY: DATA FROM A RAT MODEL

Helena Vala 1,2, Carmen Vasconcelos-Nóbrega 1,2, Adelina Gama 3,4, Rita Ferreira 5, Paula A. Oliveira 1,3, Ana Faustino-Rocha 1,6

1Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences (CITAB), Vila Real, Portugal. anafaustino.faustino@sapo.pt

2Centre for Studies in Education, and Health Technologies (CI&DETS), Agrarian School of Polytechnic Institute of Viseu, Viseu, Portugal

3Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal

4Animal and Veterinary Research Center (CECAV), Vila Real, Portugal

5Associated Laboratory for Green Chemistry (REQUIMTE), Department of Chemistry, University of Aveiro (UA), Aveiro, Portugal

6Department of Zootechnics, School of Science and Technology, Évora, Portugal

Aims: This study aimed to address the toxicological effects of MNU administration in female rats.

Introduction: N-methyl-N-nitrosourea (MNU) is the oldest member of the nitroso-compounds that can alkylate DNA. MNU induces tumor development in several organs, depending on the animals' specie and strain, dose, route, and age at administration.

Methods: Twelve Sprague-Dawley female rats were divided into two experimental groups: MNU (n=10) and control (n=2). At seven weeks of age, animals from group MNU received an intraperitoneal administration of the carcinogen MNU, at a dose of 50 mg/Kg. Animals from group control received an administration of vehicle (saline solution 0.9%). Animals were humanely sacrificed 18 weeks after MNU or vehicle administration by intraperitoneal injection of xylazine and ketamine, followed by exsanguination by cardiac puncture.

A complete necropsy was performed. Heart, lungs, liver, spleen, kidneys, adrenal glands, clitoral glands, and lymph nodes were removed and immersed in buffered formalin for histopathological analysis.

Results: Animals from group MNU developed a total of 21 mammary tumors. The organs of animals from group MNU presented a higher number of lesions with higher grade, when compared with the organs of animals from group control. Hyalinization, coagulative myocytolysis, congestion hemorrhage and hyperemia were observed in the heart. Lungs exhibited interstitial inflammation, arteriolosclerosis, arteriosclerosis, congestion, and hyperemia. Interstitial inflammation, congestion and cholestasis were observed in the liver. The spleen presented interstitial inflammation, congestion, hemosiderosis and hyperemia. Congestion, hyperemia, blebbing, hydropic degenerescence, hyaline casts and cystic dilations were found in the kidneys. Adrenal glands presented hyperplasia, congestion, and hydropic degeneration; while clitoral glands presented interstitial fibrosis, ductal dilation, interstitial inflammation, and hyperemia. Infiltrate and congestion were observed in the lymph nodes.

Conclusions: The higher number and higher grade of the lesions in group MNU were due to the carcinogenic action of the chemical agent MNU.

Acknowledgments: This work was supported by National Funds by FCT - Portuguese Foundation for Science and Technology, under the project UIDB/04033/2020.

References:

Faustino-Rocha AI, Ferreira R, Oliveira PA, Gama A, Ginja M. 2015. N-methyl-N- nitrosourea as a mammary carcinogenic agent. Tumor Biology 36 (12): 9095-9117. DOI: 10.1007/s13277-015-3973-2.

P050- EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA POR EL CONSUMO DE METALES TÓXICOS (AL, CD, HG Y PB) EN SOPAS INSTANTÁNEAS: REVISIÓN

D. Niebla Canelo 1, S. Paz Montelongo 2, C. Rubio Armendáriz 2, A. Hardisson 2, A. J. Gutiérrez Fernández 2

1Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna. España. alu0100798203@ull.edu.es

2Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología, Área de Toxicología, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna, España

El ritmo de vida actual hace que la población tienda a consumir una mayor cantidad de alimentos listos para el consumo o de fácil preparación, como es el caso de las sopas o fideos instantáneos, siendo uno de los platos preparados que en los últimos años ha supuesto un mayor incremento en la cesta de la compra de los españoles. Además, se suma que este tipo de productos, son económicamente muy rentables y de máximo aprovechamiento, ya que de forma general un envase aporta cuatro raciones y tiene un precio de entre 0,20-1,00 €.

Considerando que la dieta es la principal vía de exposición a metales tóxicos (Al, Cd, Hg y Pb), es necesario llevar a cabo una evaluación toxicológica procedente del consumo de sopas instantáneas. Los metales tóxicos pueden provocar diversos efectos nocivos sobre la salud pues son agentes neurotóxicos, carcinogénicos, nefrotóxicos, además de afectar a todos los sistemas y aparatos de nuestro organismo.

A la vista de los resultados obtenidos en la bibliografía, los valores de concentración para el Cd son de 0,25 mg/kg en sopas con ingredientes de origen vegetal y de 0,31 mg/kg en sopas con ingredientes de origen animal.

Considerando los valores de ingesta semanal/diaria tolerables fijados por la EFSA (European Food Safety Authority) y el consumo fijado por el fabricante (20 g/día por ración), se ha realizado la evaluación del riesgo. Se ha concluido que, únicamente teniendo en cuenta este alimento y no la dieta total del individuo, no existe riesgo toxicológico por el consumo de sopas instantáneas, ya que el aporte a los valores de ingesta semanal/diaria tolerables de Al, Cd, Hg y Pb son en todos los casos inferiores al 25% de este valor. Sin embargo, aun así, se propone legislar sobre este tipo de alimentos para garantizar la seguridad de los consumidores.

Referencias Bibliográficas:

Informe del Consumo Alimentario en España 2018, 2019, MAPA, España

Marine Pollution Bulletin 156 (2020) 111251.

P051- UNVEILING THE EFFECTS OF DOXORUBICIN AND MITOXANTRONE ON CARDIAC METABOLISM, HOMEOSTASIS AND AUTOPHAGY IN A MICE MODEL

Sofia Reis Brandão 1,2, Ana Reis-Mendes 1, Margarida Duarte Araújo 3, Maria João Neuparth 4, Félix Carvalho 1, Rita Ferreira 2, Vera Marisa Costa 1
1UCIBIO-REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Department of Biological Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Porto, Portugal. sofiarbrandao@ua.pt
2Mass Spectrometry Group, QOPNA & LAQV-REQUIMTE, Department of Chemistry, University of Aveiro, Aveiro, Portugal
3Department of Immuno-Physiology and Pharmacology, Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar, University of Porto, Porto, Portugal
4Research Centre in Physical Activity, Health and Leisure (CIAFEL), Faculty of Sports, University of Porto, Porto, Portugal

In the last decades, the number of cancer survivors has increased considerably due to the current anticancer therapies. Doxorubicin (DOX) and mitoxantrone (MTX) are classical chemotherapeutic agents widely used to treat solid cancers, leukemia and lymphomas. Both drugs have been associated to severe cardiac adverse side effects 1,2, involving molecular mechanisms that appear to be divergent3.

Our goal was to study the effects of DOX and MTX in heart molecular mechanisms of adult male CD-1 mice, focusing on cardiac metabolism, homeostasis and autophagy. All animals were treated with 6 intraperitoneal injections, twice a week for three weeks: control mice received saline solution, while DOX- and MTX-treated mice received a total cumulative dose of 18 mg/kg and 6 mg/kg, respectively, as this dosing scheme is pharmacological relevant and provides similar clinical doses between drugs. Animal welfare was assessed daily during the entire experimental period. Mice were euthanized one week after the last injection, for blood (taken from the inferior vena cava), and heart collection. A slice contemplating the two ventricles was cut and homogenized for Western blot analysis.

Serum glucose decreased after treatment with DOX, while alanine and aspartate aminotransferases increased. Additionally, DOX decreased the cardiac expression of ATP synthase subunit β (ATPB), electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase (ETFDH) and phosphofructokinase (PFKM), while MTX had no effect in these proteins but decreased the expression of the autophagy protein Beclin1. Moreover, both DOX and MTX decreased glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), autophagy protein 5 (ATG5) and microtubule-associated protein light chain 3 (LC3B) expression. Regarding the expression of the homeostasis proteins, namely NAD-dependent deacetylase sirtuin-3 (SIRT3) and heat shock proteins 27 (Hsp27) and 70 (Hsp70), no significant differences were found for DOX and MTX when compared to the control, but there were differences between the two drugs, suggestive of different modulation on the cardiac tissue. Although both drugs decreased important autophagic proteins, this molecular process seems more affected by MTX. On the other hand, DOX administration induced a general metabolic adaptation towards downregulation of glycolysis and fatty acids oxidation. These results suggest new pathways of the heart molecular mechanisms being unsmilingly modulated by DOX and MTX.

Acknowledgments:
This work was supported by the European Social Fund (FSE) and the Applied Molecular Biosciences Unit - UCIBIO which is financed by national funds from FCT (UIDB/04378/2020). SRB, ARM and VMC acknowledge FCT for their grants (SFRH/BD/138202/2018, SFRH/BD/129359/2017 and SFRH/BPD/110001/2015).

References:

1. Colombo, A., Sandri, M. T., Salvatici, M., Cipolla, C. M. & Cardinale, D. Cardiac Complications of Chemotherapy: Role of Biomarkers. Curr. Treat. Options Cardiovasc. Med. 16, 313 (2014).

2. Hrynchak, I., Sousa, E., Pinto, M. & Costa, V. M. The importance of drug metabolites synthesis: the case-study of cardiotoxic anticancer drugs. Drug Metab. Rev. 49, 158–196 (2017).
3. McGowan, J. V. et al. Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity. Cardiovasc. Drugs Ther. 31, 63–75 (2017).

P052- BIOMONITORAMENTO DA EXPOSIÇÃO HUMANA AO BISFENOL A EMPREGANDO ANÁLISE DE CABELO

Camila Favretto de Souza, Rafael Linden
Universidade de Feevale, Novo Hamburgo, Brasil. camila.favretto@hotmail.com

Objetivos: Realizar uma revisão bibliográfica a respeito do bisfenol A, buscando as implicações à saúde humana e a importância do biomonitoramento ambiental e em matriz biológica.

Introdução: O bisfenol A (BPA) é um composto químico classificado como desregulador endócrino, utilizado na produção de embalagem de alimentos e revestimentos de epóxi. A migração do BPA de materiais de contato para alimentos resulta na exposição aos corpos humanos e posteriormente a rede de esgoto, aumentando as preocupações ambientais. O biomonitoramento é importante para avaliar a exposição ao BPA, bem como as diferentes vias de contato, sendo o cabelo a principal matriz por conter informações de curto e longo prazo (VENISSE et al., 2014; ZHANG et al., 2021; BELLO et al., 2021; MARTÍN et al., 2019).

Metodologia: A pesquisa foi desenvolvida de forma bibliográfica e os dados foram obtidos através de artigos das plataformas Elsevier e Springer.

Resultados: O BPA é considerado um desregulador endócrino e está presente na produção de resina epóxi e plástico de policarbonato, utilizados na confecção de revestimentos marítimos, automotivos, produtos elétricos, eletrônicos, recipientes de alimentos, brinquedos e mamadeiras (CORREIA-SÁ et al., 2017; ARNOLD et al., 2013; MARTÍNEZ et al., 2021; TZATZARAKIS et al., 2015).

A variação de temperatura, pH e presença de álcool (bebidas) faz com que os produtos químicos presentes no plástico, migrem para a comida/bebida, resultando na exposição do bisfenol ao corpo humano, podendo causar danos à saúde, como: câncer de mama, diabetes, distúrbios reprodutivos, doenças cardiovasculares e problemas respiratórios (KATSIKANTAMI et al., 2020; ZHANG et al., 2021).

Dentre as possíveis forma de exposição humana ao BPA, destacam-se a dieta, poeira e ar, entrando em contato com o meio ambiente através de instalações de produção e processamento, que por vezes descarregam em estações de esgoto (ROCHA et al., 2021; ARNOLD et al., 2013).

Uma vez ingerido, o BPA é absorvido pelo trato gastrointestinal e excretado pela urina em 24h. Devido a esse fato, o cabelo oferece vantagens em relação às demais matrizes, por ser de fácil manuseio, confiabilidade, sensibilidade e abranger de semanas a meses de exposição (DEKANT & VÖLKEL, 2008; MARTÍNEZ et al., 2021; MARTÍN et al., 2019).

Considerando a relevância da avaliação da exposição ao BPA e seus impactos, estratégias de biomonitoramento da exposição aguda e crônica a este monômero são de grande relevância para estabelecer uma possível relação entre a contaminação humana e ambiental.

Conclusões: O BPA é responsável por inúmeros problemas de saúde, estando presente tanto no meio ambiente quanto em bens de consumo. A necessidade de estudar esse monômero e monitorá-lo é essencial para que não ocorram danos futuros, sendo que a principal matriz para o biomonitoramento do mesmo é o cabelo.

Referências:

ARNOLD, S. M.; CLARK, K. E.; STAPLES, C. A.; KLECKA, G. M.; DIMOND, S. S.; CASPERS, N.; HENTGES, S. G. Relevance of drinking water as a source of human exposure to bisphenol A. Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology, v. 23, p. 137-144, 2013.

BELLO, A.; XUE, Y.; BELLO, D. Urinary biomonitoring of occupational exposures to Bisphenol A Diglycidyl Ether (BADGE) – based epoxy resins among construction painters in metal structure coating. Environmental International, v. 156, p 106632, 2021.

CORREIA-SÁ, L.; KASPER-SONNENBERG, M.; SCHUTZE, A.; PALMKE, C.; NORBERTO, S.; CALHAU, C.; DOMINGUES, V. F.; KOCH, H. M. Exposure assessment to bisphenol A (BPA) in Portuguese children by human biomonitoring. Environmental Science Pollution Research, v. 24, p. 27502-27514, 2017.

DEKANT, W. & VÖLKEL, W. Human exposure to bisphenol A by monitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. Toxicology and Applied Pharmacology, v. 228, n. 1, p. 114-134, 2008.

KATSIKANTAMI, I.; TZATZARAKIS, M. N.; KARZI, V.; STAVROULAKI, A.; XEZONAKI, P.; VAKONAKI, E.; ALEGAKIS, A. K.; SIFAKIS, S.; RIZOS, A. K.; TSATSAKIS, A. M. Biomonitoring of bisphenol A and S and phthalate metabolites in hair from pregnant women in Crete. Science of the Total Environment, v. 712, p. 135651, 2020.

MARTIN, J.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Exposure assessment to parabens, bisphenol A and perfluoroalkyl compounds in children, woman and men by hair analysis. Science of the Total Environmental, v. 695, p. 133864, 2019.

MARTÍNEZ, M. A.; GONZÁLEZ, N.; MARTÍ, A.; MARQUÈS, M.; ROVIRA, J.; KUMAR, V.; NADAL, M. Human biomonitoring of bisphenol A along pregnancy: Na exposure reconstruction of the EXHES-Spain cohort. Environmental Research, v. 196, p. 110941, 2021.

ROCHA, P. R. S.; OLIVEIRA, V. D.; VASQUES, C. I.; REIS, P. E. D.; AMATO, A. A. Exposure to endocrine disruptors and risk of breast cancer: A systematic review. Critical Reviews in Oncology/Hematology, v. 161, p. 103330, 2021.

TZATZARAKIS, M. N.; VAKONAKI, E.; KAVVALAKIS, M. P.; BARMPAS, M.; NOKKINAKIS, E. N.; XENOS, K.; TSATSAKIS, A. M. Biomonitoring of bisphenol A in hair of Greek population. Chemosphere, v. 118, p. 336-341, 2015.

VENISSE, N.; GRIGNON, C.; BRUNET, B.; THÉVENOT, S.; BACLE, A.; MIGEOT, V.; DUPUIS, A. Reliable quantification of bisphenol A and its chlorinated derivatives in human urine using UPLC-MS/MS method. Talanta, v.125, p. 284-292, 2014.

ZHANG, Y.; LEI, Y.; LU, H.; SHI, L.; WANG, P.; ALI, Z. Electrochemical detection of bisphenols in food: A review. Food Chemistry, v. 346, p. 128895, 2021.

P053- EVALUACIÓN NUTRICIONAL POR EL CONSUMO DE ELEMENTOS ESENCIALES (CA, K, MG, NA, CU, FE, MN Y ZN) EN SOPAS INSTANTÁNEAS: REVISIÓN

D. Niebla Canelo 1, S. Paz Montelongo 2, C. Rubio Armendáriz 2, A. Hardisson 2, A. J. Gutiérrez Fernández 2
1Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna. España. alu0100798203@ull.edu.es
2Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Medicina Preventiva y Salud Pública, Toxicología, Medicina Legal y Forense y Parasitología, Área de Toxicología, Universidad de La Laguna, San Cristóbal de La Laguna, España

Synthetic cannabinoids (SCs) comprise a wide group of new psychoactive
La preocupación creciente de la población por consumir alimentos nutritivos, junto al ritmo de vida actual que reduce el tiempo dedicado a la preparación de alimentos, hace que el consumo de platos de preparación rápida, como las sopas o fideos instantáneos, sea cada vez más elevado.
La determinación de elementos esenciales (Ca, K, Mg, Na, Cu, Fe, Mn y Zn) en este tipo de productos es necesaria para conocer el valor nutritivo de los mismos. Es importante conocer el perfil nutricional de estos productos pues se asocian con la aparición de diversas patologías como la obesidad, hipertensión arterial, azúcar en sangre, englobadas en lo que se conoce como síndrome metabólico. Esto se debe a un consumo excesivo que provoca una ingesta elevada de elementos como el Na, pues estos alimentos contienen elevadas cantidades de sal.
A la vista de los resultados, destacan las concentraciones de Ca y Na en las sopas con ingredientes de origen vegetal, y de K y Mg en las sopas con ingredientes de origen animal: El Ca y el Na son minerales mayoritarios en los vegetales, mientras que el K y Mg destacan en los animales. Es destacable también el contenido de Fe y Mn en las sopas con ingredientes de origen animal y de Zn y Cu en las de origen vegetal.

Tras realizar la evaluación nutricional, utilizando valores de ingestas recomendadas descritas por diferentes organismos europeos y españoles, se concluye que el aporte nutricional, teniendo en cuenta únicamente este alimento y no la dieta completa, es muy inferior al necesario para un correcto funcionamiento del organismo, por lo que se recomienda una dieta variada y equilibrada.

Referencias Bibliográficas:

Informe del Consumo Alimentario en España 2018, 2019, MAPA, España

Environmental Science and Pollution Research, 2021, "en prensa", https://doi.org/10.1007/s11356-020 12260-3.

P054- THE SYNTHETIC CANNABINOIDS ADB-FUBINACA AND THJ-2201 AFFECT MITOCHONDRIAL FUNCTION DURING NEURONAL DIFFERENTIATION OF NG108-15 CELLS AT HUMAN-RELEVANT CONCENTRATIONS

Rui Filipe Malheiro, Helena Carmo, Félix Carvalho, João Pedro Silva
UCIBIO, REQUIMTE, Laboratory of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Portugal. rui_malheiro@outlook.com

Synthetic cannabinoids (SCs) comprise a wide group of new psychoactive substances with stronger binding affinity to cannabinoid receptors compared to tetrahydrocannabinol (Δ9-THC). Prenatal exposure to SCs is especially alarming due to the possible disruption of the endocannabinoid system during critical neurodevelopmental stages, possibly leading to the onset of psychotic disorders noted during childhood/adolescence. SCs also target mitochondria, which are essential during neurogenesis. Thus, this work aimed to evaluate the effects of two SCs from distinct structural classes, ADB-FUBINACA (ADB) and THJ-2201 (THJ), on mitochondrial function during neurodifferentiation of NG108-15 neuroblastoma x glioma cells.

Differentiation of NG108-15 cells was induced in serum-starved (1% fetal bovine serum) cell culture medium supplemented with 10μM retinoic acid and 30μM forskolin. Neurite outgrowth was analysed by measuring the differentiation ratios (number of primary neurites/total cell number) and total length of neurites after addition of SCs (kindly supplied by TicTac Communications Ltd, UK), once (at day 0) or every 24h for 3 days (repeated exposure) at human-relevant concentrations (1pM-1μM). Changes in mitochondrial membrane potential (MMP) was analysed by TMRE labelling after 24 and 72h exposure following a single SC addition and cytosolic calcium levels were monitored for 1h (Fluo-4 AM labelling) immediately, and at 24 and 72h after exposure. A selective CB1 antagonist, SR141716A, was used to assess the involvement of CB1 in the observed effects.

Differentiation ratios and total neurite length were significantly increased after single and repeated exposures to all tested concentrations of ADB. These results contrast with data from THJ, which we have previously shown to increase differentiation ratios after only a single addition and total neurite length only at 1pM [1]. Notably, cells' pre-incubation with SR141716A prevented this enhanced differentiation, suggesting that CB1 mediated SCs' actions on neurodifferentiation. Both SCs also reduced the MMP after a 72h exposure, especially at the lowest concentration tested (1nM), but not at an earlier timepoint (24h). However, this effect on MMP was not prevented by the presence of SR141716A. No significant alterations on intracellular calcium levels were noted at any of the conditions tested.

Overall, ADB and THJ enhanced neurodifferentiation of NG108-15 cells in a CB1-dependent way, however, depending on the chemical nature of the drug and exposure settings (e.g. repeated vs single administration and dose) these effects may differ. Furthermore, this alterations on cellular neurodifferentiation was accompanied by decreased MMP after exposure to both SCs. However, further research is needed to clarify the potential mechanisms involved on SC-induced disruption of neurodevelopmental processes.

Acknowledgments: This work was supported by FEDER (COMPETE 2020) and Portuguese funds (FCT-Fundação para a Ciência e a Tecnologia) via grant POCI-01-0145-FEDER-029584, and by UIDB/04378/2020 through FCT/MCTES national funds. RFM acknowledges FCT for his PhD grant 2020.07135.BD.

References:

[1] Alexandre, J., Malheiro, R., Dias da Silva, D., Carmo, H., Carvalho, F., & Silva, J. P. (2020). The Synthetic Cannabinoids THJ-2201 and 5F-PB22 Enhance In Vitro CB1 Receptor-Mediated Neuronal Differentiation at Biologically Relevant Concentrations. International Journal of Molecular Sciences, 21(17), 6277.


Núcleo de Estudantes De Ciências Farmacêuticas da Universidade da Beira Interior
UBIPHARMA