

AVALIAÇÃO IMUNOTOXICOLÓGICA EM HEMÓCITOS DE *NEOHELICE GRANULATA* EXPOSTOS AO BISFENOL A

**RAMIRES, Carolina; MESQUITA, Ana Cláudia; DALMOLIN, Camila;
MARTÍNEZ, Pablo E.**

CHAVES, Isabel Soares
karolramires@hotmail.com

Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Fisiologia Comparada

Palavras-chave: Bisfenol A, *Neohelice granulata*, sistema imune.

1 INTRODUÇÃO

O estudo do sistema imune de crustáceos desponta como uma estratégia recente e promissora, visto que permite conhecer as bases da susceptibilidade e resistência destes animais a microrganismos patogênicos e parasitas, além de estabelecer imunomarcadores para a consolidação de diferentes abordagens toxicológicas comparativas. Desta forma, o aprimoramento e consolidação de técnicas de avaliação imunotoxicológica em invertebrados aquáticos precisam ser mais desenvolvidos para que possa servir como uma segura e importante ferramenta para o monitoramento e conservação do ecossistema aquático. O objetivo deste trabalho é avaliar a exposição de hemócitos de *N. granulata* ao BPA através de análises imunotoxicológicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A crescente utilização de produtos químicos em nosso dia-a-dia tem levado ao aumento da contaminação ambiental por xenobióticos. Dentre diversas substâncias tóxicas estudadas estão àquelas conhecidas como Desreguladores Endócrinos (DEs) que são substância exógena ou mistura de substâncias que altera a função do sistema endócrino e consequentemente causa efeitos adversos na saúde dos organismos ou na sua descendência (Andrady e Neal, 2009). A maior parte dos estudos já realizados sobre os impactos dos DEs aborda parâmetros reprodutivos, embora seus efeitos apresentem ações em uma ampla variedade de funções fisiológicas. O Bisfenol A (BPA), que é usado como estabilizante na produção de plásticos, inclusive embalagens de alimentos, policarbonatos, epóxi entre outros, é um desregulador endócrino com atividade estrogênica (Cousins *et al.*, 2002). Vários estudos têm sido publicados nos últimos anos mostrando o efeito prejudicial do Bisfenol A em diferentes espécies animais, principalmente no sistema reprodutor, além de importantes danos no sistema nervoso e no sistema imune. Entretanto são poucos os trabalhos que abordam efeitos do BPA não relacionadas ao sistema reprodutor. Para os organismos aquáticos, o risco de exposição crônica ao BPA ocorre por diversos fatores (Oehlmann *et al.* 2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Os caranguejos machos de *N. granulata*, foram coletados na marisma da Barra da cidade do Rio Grande, transportados e acondicionados no Biotério de Animais Aquático do ICB-FURG, mantidos em tanques com salinidade 30, temperatura 20°C,

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

aeração constante e alimentados 3x/semana. Os animais foram crio-anestesiado, sua hemolinfa foi coletada com solução anticoagulante, a suspensão celular lavada (1100 rpm, 10min, 5°C) e o pellet final ressuspendido. A viabilidade celular foi avaliada pelo teste de exclusão por Azul de Tripan (viabilidade >95%) para realização de testes. As células aderidas nas lâminas histológicas foram expostas às concentrações de BPA (0,01µg/L; 0,1µg/L; 1µg/L; 10µg/L; 50µg/L e 100µg/L) durante 2 horas em câmara úmida (25°C). Após a exposição foram realizados os ensaios imunotoxicológicos e avaliada e registrada a viabilidade celular por Azul de Tripan. A fagocitose foi realizada por 30 minutos (25°C) e, depois de coradas com May-Grunwald/Giemsa, as lâminas foram examinadas em microscópio óptico (1000x) para registrar o percentual de células que efetuaram fagocitose e o número médio de leveduras fagocitadas/hemócitos ativos. A avaliação da estabilidade da membrana lisossomal de hemócitos foi realizada pelo teste de exposição ao vermelho neutro (VN), onde o percentual (%) de células que mostraram sinal de vazamento lisossomal foi computado após 60min de exposição ao VN.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Foi observada diminuição significativa da viabilidade celular em hemócitos expostos às concentrações de 1µg/L, 50µg/L e 100µg/L de BPA o que não foi observado nas demais concentrações, sugerindo que algum mecanismo de proteção, como aqueles relacionados à resistência a múltiplos xenobióticos, pode ter sido ativado atuando na detoxificação do BPA na concentração de 10µg/L de BPA. Não houve diferença significativa em relação ao controle nos demais parâmetros analisados, entretanto uma aparente diminuição de células aderidas observada nas lâminas de fagocitose em todas as concentrações de exposição pode representar um efeito preditivo da toxicidade do BPA que observado na viabilidade celular, não podendo se afirmar que estes parâmetros não tenham sido sensíveis para verificar esta toxicidade.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que os testes de imunidade celular não foram sensíveis para verificar efeito tóxico do BPA pelo fato de possivelmente os hemócitos estarem perdendo a capacidade de aderência não foi possível se verificar efeito nestes testes. O teste de avaliação da viabilidade celular foi eficiente para se verificar efeito tóxico do BPA, provavelmente pelo fato de ter sido realizado com células em suspensão. Na continuidade serão realizados testes de aderência celular em hemócitos expostos a todas as concentrações de BPA utilizadas neste estudo para se comprovar as hipóteses sugeridas.

REFERÊNCIAS

ANDRADY AL; NEAL MA. Applications and societal benefits of plastics. Phil. Trans. R. Soc. B 364, p. 1977–1984, 2009.
COUSINS IT; STAPLES CA; KLECKA GM; MACKAY D. A Multimedia Assessment of the Environmental Fate of Bisphenol A. Hum Ecol Risk Assess 8, p. 1107-1135, 2002.
OEHLMANN J; SCHULTE-OEHLMANN U; BACHMANN J; OETKEN M; KLOAS W; TERNES TA. Bisphenol A induces superfeminization in the ramshorn snail Marisa

13ª Mostra da Produção Universitária

Rio Grande/RS, Brasil, 14 a 17 de outubro de 2014.

cornuarietis (Gastropoda: Prosobranchia) at environmentally relevant concentrations. Environ. Health Perspect. 114, p. 127– 133, 2006.